

UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
PROGRAMA CENTROAMERICANO DE MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA

ESTUDIO DE CAMPO Y DE LABORATORIO DE LOS EFECTOS DEL USO DE
PLAGUICIDAS PROVENIENTES DE LA AGRICULTURA EN LA DINÁMICA DE
LA COMUNIDAD DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS

Por:
TOMÁS ALBERTO RÍOS GONZÁLEZ

PANAMA, REPÚBLICA DE PANAMA

2019

**ESTUDIO DE CAMPO Y DE LABORATORIO DE LOS EFECTOS DEL USO DE
PLAGUICIDAS PROVENIENTES DE LA AGRICULTURA EN LA DINÁMICA
DE LA COMUNIDAD DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS**

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIZACIÓN EN
ENTOMOLOGÍA GENERAL

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

Permiso para su publicación total o parcial, debe ser obtenido en la Vicerrectoría de
Investigación y Postgrado

APROBADO

Asesor

Jurado

Jurado

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico muy especialmente a mi esposa Sofía, por representar el esfuerzo y demostrarme que siempre podré contar con ella. A mis hijos Kerineth, Ricardo y Camila por ser mis fuentes de inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor. A mis padres, Tomás Ríos Sánchez y Vielka González. A mi hermano Joel por ser parte importante en el desarrollo de mis estudios de maestría. Diego y Gabriel, también gracias por su apoyo incondicional hermanos.

Por último y muy importante, este trabajo se lo dedico a una persona que me encamino en el mundo de la entomología y a la investigación que gracias a él he logrado avanzar profesionalmente...a ti amigo, ¡jefe y porque no padre...al Dr. Juan Antonio Bernal Vega (q.e.p.d.) GRACIAS POR SIEMPRE!

AGRADECIMIENTO

A Aydeé Cornejo por permitirme realizar mi tema de tesis de maestría en el marco del capítulo 1 de su tesis doctoral; por sus atinados momentos de discusiones y consejos para culminar este trabajo...Gracias Aydeé.

A Alan Tonin por el apoyo y la orientación brindada en la realización de análisis estadísticos. Al Doctor José Loaiza y el profesor Alonso Santos Murgas *M.Sc.*, miembros del jurado, por haber compartido sus conocimientos y por sus valiosos aportes para mejorar el presente documento.

Al Programa Nacional de Becas de Postgrado financiado por la SENACYT por haberme otorgado el financiamiento para los estudios de esta maestría.

A los colaboradores Teresa Ábrego y Edgar Pérez de la Colección Zoológica Eustorgio Méndez del Instituto Gorgas de Estudios de la Salud.

A la Licda. Brenda Checa y a su equipo de colaboradores: Stéfani González, Enilda Coronado y Samuel Hernández en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del MIDA, por colaborar en los análisis de laboratorio. Gracias por su tiempo y paciencia.

A mis compañeros de estudio de la maestría Pamela Polanco, Ernesto Bonadies y Luz Barría, pero especialmente a Alejandro Almanza, por su amistad y compañerismo.

También quiero agradecer a los administrativos y a los profesores del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología por contribuir en mi formación como Entomólogo.

A los profesores Angélica Rodríguez y Boris Sanjur. Y, por último, a mis compañeros de trabajo Hehofilio González y Cindy Samudio.

¡Muchas Gracias!

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	3
ABSTRACT.....	4
I. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Planteamiento del problema en el contexto local.....	8
1.2. Objetivos	9
1.3. Hipótesis.....	9
II. REVISIÓN DE LITERATURA	10
2.1. Efectos de los plaguicidas y de las actividades agrícolas sobre la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos	11
2.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1. Área de estudio.....	18
3.2. Estudio de campo sobre la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos.	24
3.2.1. Caracterización hidromorfológica	24
3.2.2. Parámetros físicoquímicos.....	25
3.2.3. Determinación de plaguicidas en agua	25
3.2.4. Comunidad de macroinvertebrados acuáticos	26
3.2.5. Cálculo de las unidades tóxicas	27
3.2.6. Cálculo de los índices bióticos	28
3.2.7. Análisis estadísticos.....	29
3.3. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos	32
2.3. Análisis de muestras de tejido de odonatos en el laboratorio.....	35
IV. RESULTADOS	38
4.1. Efecto de los plaguicidas y de la actividad agrícola en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos	38

4.1.1. Caracterización hidromorfológica de las estaciones de muestreo	38
4.1.2. Parámetros fisicoquímicos.....	38
4.1.3. Plaguicidas en agua.....	39
4.1.4. Abundancia y riqueza taxonómica de macroinvertebrados	39
4.1.5. Índices bióticos	40
4.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos.	44
V. DISCUSIÓN.....	46
5.1. Efecto de los plaguicidas y de la actividad agrícola en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos	46
5.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos	48
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
VIII. ANEXOS	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Coordenadas de los sitios de muestreo, fecha de muestreo y número de muestras recolectadas en cada sitio.	72
Cuadro 2. Protocolo de evaluación rápida del hábitat desarrollado modificado de Barbour et al (1999) para flujos de alto gradiente.	73
Cuadro 3. Categorías de calidad de hábitat según Barbour et al. (1999).	74
Cuadro 4. Variables de hábitat utilizadas para la caracterización del sitio según la metodología modificada de Barbour et al. (1999) (media \pm SE de 20 campañas de muestreo).	75
Cuadro 5. Variables fisicoquímicas para cada sitio (media \pm SE de 20 campañas de muestreo).	76
Cuadro 6. Concentración media (\pm SD) ($\mu\text{g L}^{-1}$) de plaguicidas en el agua y número total de plaguicidas detectados en cada sitio en 20 campañas de muestreo. CAS son los números de registro del servicio de resumen químico para plaguicida.	77
Cuadro 7. Valores T _{Umax} y concentraciones de plaguicidas ($\mu\text{g / L}$) asociados con las recolecciones de la campaña y el sitio de muestreo.	79
Cuadro 8. Abundancia media (\pm DE) de cada taxón de macroinvertebrados (principalmente a nivel de familia) y de todos los macroinvertebrados, y abundancia total y riqueza taxonómica, en cada sitio de estudio en 20 campañas de muestreo.	82
Cuadro 9. Puntaje promedio (\pm SD) de los índices bióticos en cada sitio de estudio en 20 campañas de muestreo.	86
Cuadro 10. Los resultados de los modelos (estimación \pm error estándar, valores t y P) que mejor pronosticaron la abundancia, riqueza, SPEAR y BMWP de macroinvertebrados después de un procedimiento de selección hacia atrás del modelo. El error estándar residual, los grados totales de libertad y el parámetro ρ (que indica la correlación temporal de muestreos posteriores) de los modelos son 124.6, 257 y 0.42 para la abundancia; 9.65, 216, 0.19 para la riqueza; 4.92,	

216, 0.14 para SPEAR; y, 45.6, 216, 0.13 para BMWP. Los predictores fueron: temp = temperatura del agua, PO4 = fosfato, Sed_dep = deposición de sedimentos, TUmáx = unidades tóxicas máximas..... 87

Cuadro 11. Resultados del análisis de redundancia parcial (pRDA) que explora la cantidad de variación en la composición de la comunidad de macroinvertebrados explicada por la toxicidad de plaguicidas (TUmáx), el enriquecimiento de nutrientes (PO4) y la alteración del hábitat (temperatura e índice de deposición de sedimentos). Se mostraron los grados de libertad (dfmodel, dfresidual), R^2 ajustados (R^2_{adj}) y los valores p asociados (p) (después de las pruebas de permutación con 999 aleatorizaciones)..... 89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa con la ubicación de las estaciones de muestreo en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo, provincia de Chiriquí.	19
Figura 2(a-f). Estaciones de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (<i>Estudio de campo</i>). 2a) Los Quetzales (E1), 2b) Las Nubes (E2), 2c) Garita Final (E3), 2d) Los González (E4), 2e) Garita Afuera (E5), 2f) Entre Ríos (E6).....	21
Figura 3 (a-f). Estaciones de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (<i>Estudio de campo</i>). 3a) Barrio Guadalupe (E7), 3b) Nueva Suiza (E8), 3c) Salida de Nueva Suiza (E9), 3d) Cultivos Selectos (E10), 2e) Entrada Escuela (E11), 2f) ANEF (E12).....	22
Figura 4 (a-d). Estación de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (<i>Estudio de campo</i>) 4a) Isópulos (E13). 4(b-d) Estaciones de muestreo de ninfas de odonata para la determinación de residuos de plaguicidas (<i>Estudio de laboratorio</i>). 4b) Quebrada ubicada dentro del Parque Internacional La Amistad (PILA, S1), 4c) Guadalupe (S2), y 4d) Respingo (S3).....	23
Figura 5. Actividades agrícolas cercanas a las fuentes de agua recolectando ninfas de odonatos	33
Figura 6. Recolecta de ninfas de odonatos	33
Figura 7. Recolecta de ninfas de odonatos con red D.....	34
Figura 8. Revisión y separación de las ninfas de odonatos en bandejas.....	34
Figura 9. Proceso de secado de la muestra.	37
Figura 10. Proceso de macerado de la muestra.....	37
Figura 11. Proceso de extracción.	37
Figura 12. Proceso de filtración.	37
Figura 13. Proceso de limpieza con sales.	37

Figura 14. Análisis instrumental en LC-MS / MS	37
Figura 15. Abundancia de individuos y riqueza de géneros por estación de muestreo en el área de estudio durante el 2015, cuenca río Chiriquí Viejo.	40
Figura 16. Análisis de redundancia (RDA) que explora los efectos de la toxicidad de los plaguicidas (cuantificada como T _{Umax}), el enriquecimiento de nutrientes (concentración de SRP) y la alteración del hábitat (índice de deposición de sedimentos –inversamente relacionado con la sedimentación- y el calentamiento) en la composición de la comunidad de macroinvertebrados; RDA1 y RDA2 son los ejes RDA, y S1 a S13 son los sitios de muestreo.....	42
Figura 17. Análisis de redundancia parcial (pRDA) que cuantifica la cantidad de variabilidad en la composición de la comunidad de macroinvertebrados atribuible a la toxicidad de los plaguicidas (cuantificada como T _{Umax}), enriquecimiento de nutrientes (concentración de SRP) y alteración del hábitat (índice de deposición de sedimentos - relacionado en gran medida con la sedimentación y el deterioro) y su aporte compartido. La cantidad de variabilidad explicada por cada factor o su contribución compartida se basa en R^2_{adj} ; los asteriscos indican resultados significativos (a $p < 0.05$, basado en 999 permutaciones).	43
Figura 18. Análisis de trazas de plaguicidas en muestras de tejido de odonatos.....	44
Figura 19. Análisis de las muestras control, con valores que están fuera del rango permisible (60 - 140 %).	45

RESUMEN

Los bosques tropicales están disminuyendo a tasas sin precedentes en favor de la agricultura, y los arroyos pueden verse gravemente afectados por los efectos de múltiples factores estresantes (principalmente contaminación orgánica e inorgánica y alteración del hábitat) que rara vez se han considerado juntos en estudios tropicales. Estudiamos los efectos de múltiples factores estresantes asociados con las prácticas agrícolas (toxicidad por plaguicidas, cuantificada como TU_{max}, concentraciones de nutrientes y degradación del hábitat) en comunidades de macroinvertebrados en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo y además la bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados de dicha cuenca. Las hipótesis fueron que (1) los efectos de los factores estresantes combinados serían mayores que sus efectos únicos y (2) la bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados sería mayores en zonas de la cuenca con mayor intensidad en el uso de plaguicidas. En el estudio de campo, nuestros análisis revelaron efectos significativos de todos los factores de estrés en la riqueza taxonómica, en todos los índices bióticos y en la composición de la comunidad de macroinvertebrados, con su mayor efecto cuando se combinaron los factores de estrés. En el laboratorio se determinó la presencia de Bifentrin y DDE-p'p' en tejido de ninfas de Odonata. Estos hallazgos coinciden con resultados previos de zonas templadas y resaltan la necesidad de realizar evaluaciones en las que se integren múltiples efectos de la agricultura sobre los macroinvertebrados en ríos tropicales y estudios de laboratorio que permitan evaluar las trazas de plaguicidas en tejido animal como mecanismo de alerta temprana.

ABSTRACT

Tropical forests are declining at unprecedented rates in favour of agriculture, and streams can be severely impacted due to effects of multiple stressors (mainly inorganic and organic pollution and habitat alteration) that have rarely been considered together in tropical studies. We studied the effects of multiple stressors associated with agricultural practices (pesticide toxicity – quantified as TU_{max} –, nutrient concentrations and habitat degradation) on macroinvertebrate communities in a tropical catchment in Panama. The hypotheses were that (1) the effects of the combined stressors would be greater than their unique effects and (2) the bioaccumulation of pesticides in macroinvertebrate tissue would be greater in areas of the basin with greater intensity in the use of pesticides. In the field study, our analyzes revealed significant effects of all stress factors on the taxonomic richness, all the biotic indices and the composition of the community, with its greatest effect when the stress factors were combined. In the laboratory the presence of Bifentrin and DDE-p'p 'was determined in Odonata nymph tissue. These findings coincide with the previous results of the temperate zones and highlight the need to carry out evaluations in which multiple effects of agriculture on macroinvertebrates in tropical rivers are attempted and laboratory studies that allow to evaluate traces of pesticides in animal tissue as a mechanism of early warning.

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las actividades humanas con mayor impacto en los ecosistemas de la tierra (Phalan et al., 2013). La tierra agrícola ahora ocupa el 40% de la superficie terrestre (Graeber et al., 2015), y probablemente se expandirá en las próximas décadas como resultado de la mayor demanda de una población global más grande (Tilman et al., 2001). Esto es particularmente cierto para los países subdesarrollados, muchos de los cuales están ubicados en regiones tropicales (Laurance et al., 2014). Los bosques tropicales están disminuyendo a tasas sin precedentes en favor de la agricultura (Gibbs et al., 2010), y las corrientes que fluyen a través de las cuencas agrícolas tropicales pueden verse gravemente afectadas (Rasmussen et al., 2016).

La agricultura puede alterar las comunidades acuáticas y los ecosistemas acuáticos por varias razones, incluyendo el aumento de la contaminación tanto inorgánica como orgánica debido a los plaguicidas y fertilizantes, respectivamente (Berenzen et al., 2005), y la alteración de la vegetación ribereña y características del hábitat físico (Heartsill-Scalley & Aide, 2003). Por lo tanto, las corrientes se ven afectadas por múltiples factores de estrés (Townsend et al., 2008; Ormerod et al., 2010), todos relacionados con prácticas agrícolas, que deben considerarse conjuntamente al evaluar cómo la agricultura impacta en las comunidades acuáticas (Matthaei et al., 2010). Sin embargo, este enfoque rara vez se ha utilizado para el estudio de ríos tropicales, donde la información sobre los efectos

de los plaguicidas es escasa (Rasmussen et al., 2016) y los estudios generalmente han considerado los efectos separados del enriquecimiento de nutrientes (Pearson & Connolly, 2000) y hábitat alterado (Iwata et al., 2003b).

Los efectos de los plaguicidas sobre la estructura de la comunidad de macroinvertebrados de ríos tropicales son en gran parte desconocidos. La mayor parte de la información disponible sobre los efectos de la toxicidad se refiere a las especies de climas templados (Castillo et al., 1997), que se han utilizado para desarrollar índices como el Especies en Riesgo, ampliamente utilizado en Europa (SPEARpesticides, en adelante SPEAR; Liess et al., 2005). Por lo tanto, aunque los estudios de zonas templadas a menudo han encontrado una fuerte correlación entre los plaguicidas y el SPEAR (Schafer et al., 2007; Liess et al., 2008), el único estudio tropical que utilizó este enfoque, según nuestro conocimiento, no encontró una correlación similar con el SPEAR (Rasmussen et al., 2016).

Los efectos de la contaminación orgánica en los macroinvertebrados en ríos se han evaluado generalmente utilizando índices como Biological Monitoring Working Party (BMWP), que se basa en la sensibilidad o tolerancia de diferentes familias de macroinvertebrados al enriquecimiento de nutrientes (Hawkes, 1998). El BMWP, se ha utilizado a menudo en los trópicos, con variaciones que explican las diferencias en la fauna local (Stein et al., 2008). En cambio, los efectos de las características del hábitat (por ejemplo, sedimentación, baja concentración de oxígeno disuelto, pérdida de la cubierta ribereña) sobre las comunidades de macroinvertebrados de ríos tropicales se han evaluado con mayor frecuencia (Connolly et al., 2004; Connolly & Pearson, 2007; Lorion & Kennedy, 2009b), pero rara vez dentro del contexto de las prácticas agrícolas.

El termino indicador “bioacumulativo” se usa para enfatizar la diferencia entre un indicador ecológico y un indicador de polución. También se utiliza para señalar la presencia o ausencia de organismos que acumulan contaminantes del entorno (a través de sus alimentos), y los almacenan en sus cuerpos, de manera que cuando los tejidos se analizan, se puede estimar las concentraciones de esas sustancias (Hellawell, 1986).

El uso de indicadores bioacumulativos tiene mayor ventaja sobre el análisis directo de los contaminantes en el agua o el sedimento. Por ejemplo, el uso de indicadores bioacumulativos podría facilitar el análisis del contaminante cuando las concentraciones en el agua o los sedimentos son muy bajos para poder realizar un análisis directo. Igualmente, el contaminante se encuentra biodisponible en el tiempo, y por lo tanto, provee una medida de la disponibilidad del contaminante. Los estudios sobre esta forma de bioindicación pueden realizarse basándose en la bioacumulación de sustancia en los tejidos de los organismos que viven en ecosistemas bajo presión o polución (monitoreo pasivo) o los organismos deliberadamente expuestos al ambiente (monitoreo activo). Esto puede contenerse por medio de la observación de cambios histológicos y morfológicos y pruebas de desarrollo embriológico de etapas iniciales de vida (Herbas et al., 2006).

Se han realizado estudios para determinar el efecto de diferentes grupos de plaguicidas en macroinvertebrados acuáticos, evidenciando el daño fisiológico que causan estos agroquímicos en diferentes concentraciones (Anderson, 1988; Castillo et al., 2000; Iannacone et al., 2003). También, se han desarrollado protocolos para determinar la

presencia y concentración de plaguicidas en tejidos de peces y larvas de Odonata (Belenguer et al., 2014, Jesús et al., 2018).

1.1. Planteamiento del problema en el contexto local

La cuenca del río Chiriquí Viejo se encuentra sometida a diferentes efectos estresantes como la producción agrícola, actividades agroindustriales, asentamientos urbanos, deforestación, sedimentación, producción de energía hidroeléctrica e impacto turístico, entre otros (Tapia & Bernal, 2014; Cornejo et al., 2017). Esta condición ha favorecido la presión por la explotación de los recursos naturales, que, sumado a la falta de gestión ambiental, han generado el deterioro progresivo de la cuenca, en particular el recurso hídrico (Vega, 2012). Según Carranza (2007), en el área de Cerro Punta se utilizan alrededor de 121 agroquímicos, distribuidos en 42 insecticidas, 37 fungicidas, 23 herbicidas y 19 fertilizantes. Según este autor, existe un uso excesivo de plaguicidas en el corregimiento de Cerro Punta, sin cumplir ningún tipo de norma que rijan la aplicación de estos agroquímicos en el área.

Recientemente, el Ministerio de Desarrollo Agropecuario (Proyecto RLA 7019) ha reportado la presencia de 40 plaguicidas en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo, en aguas y en sedimentos. En el caso de las muestras de agua de algunas estaciones de muestreo evaluadas durante el 2015, hallaron valores superiores al límite establecido en la Directiva 83/98/CE de la Comunidad Económica Europea (CEE) para Alaclor, Diazinon, Chlopirifos y Etoprofos. En el caso de las muestras de sedimento, reportaron concentraciones de Clorotalonil cinco veces superiores al rango más alto permisible según el New York State Department of Environmental Conservation Division of Fish,

Wildlife and Marine Resources Bureau of Habitat, lo que probablemente represente un riesgo para las comunidades de macroinvertebrados acuáticos (MIDA, 2016).

1.2. Objetivos

1. Estudiar los efectos de los plaguicidas y de las actividades asociadas a las prácticas agrícolas sobre la estructura de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos (*estudio de campo*) y 2. la bioacumulación de plaguicidas en tejido de ninfas de Odonata (*estudio de laboratorio*) en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo.

1.3. Hipótesis

Planteamos las hipótesis de que (1) los factores de contaminación por plaguicidas, degradación del hábitat y enriquecimiento de nutrientes interactuarán, con sus efectos combinados sobre la composición de la comunidad siendo mayores que sus efectos únicos y 2) la bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados, fluctuará y será mayor en zonas de la cuenca con mayor intensidad en el uso de plaguicidas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

En muchas regiones hay economías basadas en la agricultura que dependen del uso intensivo de plaguicidas para el control de plagas (Castillo et al., 1997). La intensificación de la agricultura y la expansión de las fronteras agrícolas con aumentos relacionados en el uso de plaguicidas han sido evidentes en América Latina desde finales de los años noventa (Brannstrom, 2009; Richards et al., 2012; Schreinemachers & Tipraqsa, 2012). Esto ha generado preocupaciones sobre los posibles efectos de los plaguicidas en el medio ambiente.

Los plaguicidas desempeñan un papel clave para permitir la intensificación agrícola al proteger los cultivos del daño causado por insectos plagas y enfermedades causadas por patógenos, y al reducir la competencia de las plantas de malezas. Sin embargo, debido a que los plaguicidas están diseñados para ser biológicamente activos, también pueden ser peligrosos para ciertos organismos no específicos (Beketov et al., 2009). En consecuencia, es necesario evaluar si el uso de plaguicidas podría presentar riesgos potenciales para los organismos no objetivo, incluidos los que se encuentran en hábitats fuera del área de tratamiento o aplicación, como las aguas superficiales (Carriquiriborde et al., 2014).

2.1. Efectos de los plaguicidas y de las actividades agrícolas sobre la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos

La bioevaluación de los ecosistemas dulceacuícolas se hace con la intención de demostrar la relación entre los factores de estrés de origen antropogénico y las respuestas de las comunidades bióticas del lugar (Clements et al., 2002). Se integran la estimación de la diversidad y densidad de estos organismos indicadores y la evaluación del medio físico o de hábitats, como un complemento a la medición de parámetros físicoquímicos convencionales y esto permite entender los procesos que dan integridad a los ecosistemas acuáticos (Cornejo et al., 2019).

Los efectos de la contaminación orgánica y de la alteración de las características del hábitat sobre macroinvertebrados acuáticos de ríos tropicales, han sido evaluados con frecuencia (Arocena, 1996; Asprilla et al., 2006; Baptista et al., 2007; Caicedo & Palacios, 1998; Domínguez & Fernández, 1998; Escobar, 1989, Fenoglio et al., 2002, Fernández et al., 2006; Figueroa et al., 2003; Fossati et al., 2001; Guerrero & Lloyd, 1992; Gutiérrez et al., 2004; Gutiérrez et al., 2014; Jacobsen, 1998; Junqueira & Campos, 1998; Machado & Roldán, 1981; Posada et al., 2000; Riss et al., 2002; Roldán et al., 1973, Roldán 1999 y 2003, Rosales & Sánchez, 2013; Segnini, 2003; Silvia et al., 2007; Terneus et al., 2012; Zúñiga et al., 1993). Sin embargo, rara vez se han realizado estudios dentro del contexto de las prácticas agrícolas (Deknock et al., 2019; Galindo et al., 2012; Rasmussen et al., 2016; Rizo-Patrón et al., 2012) y a nuestro entender, sólo existe un estudio sobre trazas de plaguicidas en tejidos de insectos acuáticos en la región (Jesús et al., 2017).

No obstante, la mayoría de los estudios acerca de los impactos de los plaguicidas y las actividades agrícolas sobre la estructura e integridad funcional de los ecosistemas fluviales, han sido mejor estudiadas y documentadas en ríos de zonas templadas que en los trópicos. Esto es debido a que existen obstáculos importantes que dificultan la realización de estos tipos de estudio de los arroyos tropicales. Una brecha evidente es nuestro limitado conocimiento de la fauna bentónica. Los invertebrados europeos, norteamericanos, y en menor medida, australianos y neozelandeses, han sido ampliamente estudiados y son bien conocidos, pero no es el caso de la mayoría de los invertebrados de ríos tropicales (Boyero et al., 2009).

En Australia, por ejemplo, Leonard et al., (2000) evaluaron la mortalidad de seis taxones de macroinvertebrados dominantes (*Jappa kutera*, *Atalophlebia* sp., *Tasmanocoenis* sp., *Baetis* sp., *Cheumatopsyche* sp., *Ecnomus* sp.) y encontraron que esta mortalidad estaba relacionada con la contaminación por endosulfán debido a la descarga del río. En Alemania, Liess & Schulz (1999) evaluaron el impacto de los insecticidas asociados con la escorrentía superficial inducida por la lluvia de las tierras de cultivo en las poblaciones de macroinvertebrados y observaron un aumento transitorio en la descarga y contaminación por insecticida (máximo 6 µg/L de paratión-etilo en el agua de la corriente, 302 µg/L de fenvalerato en partículas suspendidas) en una corriente aguas arriba posterior al escurrimiento de la superficie de las tierras cultivables. En la comunidad de macroinvertebrados acuáticos, ocho de las once especies abundantes desaparecieron, y los tres restantes se redujeron significativamente en abundancia después de la escorrentía contaminada con insecticida. En Sur África, Schulz et al., (2002) evaluaron los efectos potenciales del insecticida organofosfato azinfosmetil (AZP)

en macroinvertebrados con un enfoque combinado de ensayos en microcosmos y en campo en un río. Los autores encontraron que sólo tres de las 12 especies de macroinvertebrados reaccionaron de manera diferente en el microcosmos y en el estudio de campo y sugieren que la contaminación transitoria por plaguicidas afecta a las comunidades acuáticas del río.

El monitoreo de la exposición a plaguicidas es difícil debido a que los compuestos están en un gran número. Poseen una naturaleza difusa y transitoria, y están presentes en bajas concentraciones (Beketov et al., 2009). Sumado a esto, el establecimiento de una relación causal entre un factor estresante y los efectos puede verse obstaculizado por la variabilidad natural, ya que cada sitio de muestreo exhibe una combinación única de variables ambientales y especies. Sin embargo, pueden existir variables de confusión como la aparición de otros factores de estrés antropogénicos o naturales que pueden enmascarar los efectos de un factor de estrés en particular (Schäfer et al., 2007). La presencia y la intensidad de los factores estresantes se consideran elementos de apoyo para el monitoreo (Schäfer et al., 2016).

Como la mayoría de los factores estresantes o los gradientes ambientales afectan solo a ciertas modalidades de rasgos, llamados rasgos de respuesta, se pueden utilizar enfoques basados en rasgos para identificar los efectos de un factor estresante específico, por ejemplo, los plaguicidas a nivel comunitario, la abundancia relativa o el número de especies con ciertas modalidades de rasgo probablemente disminuirían, lo que permitiría interpretar y / o predecir el cambio de la comunidad (Statzner et al., 2005). Liess & von der Ohe (2005) desarrollaron un índice basado en rasgos para distinguir los efectos de los

plaguicidas y de otras variables ambientales sobre las comunidades de macroinvertebrados de agua dulce.

El índice SPEAR es el único método disponible actualmente que puede vincular la degradación biológica en un sitio con la exposición a plaguicidas y dar una indicación del nivel de contaminación. Este índice ha sido utilizado con éxito en diferentes regiones biogeográficas de Europa. Los estudios de campo en Alemania, Francia y Finlandia han demostrado un vínculo entre la exposición a insecticidas y fungicidas y las alteraciones de la comunidad de macroinvertebrados de las corrientes expresadas como índice SPEAR específicos de plaguicidas (Liess & von der Ohe, 2005; Schäfer et al., 2007; von der Ohe et al., 2007).

El índice SPEAR se basa en la sensibilidad de las especies a los tóxicos orgánicos (von der Ohe & Liess, 2004) y los rasgos del ciclo de vida. Ciertos rasgos, como la duración del ciclo de vida, la capacidad de la especie para migrar y si la especie está presente en el agua durante los períodos de exposición máxima a plaguicidas esperados, pueden usarse para estimar el potencial de exposición y recuperación. Las especies se clasifican en "especies en riesgo" y "especies no en riesgo" según estas características (Liess & Von der Ohe, 2005). El SPEAR ha demostrado ser sensible a la contaminación por plaguicidas, relativamente independiente de factores ambientales abióticos distintos de los plaguicidas, y aplicable en diferentes regiones biogeográficas (Liess & Von der Ohe, 2005; Beketov et al., 2009; Rasmussen et al., 2016; Hunt et al., 2017).

El índice BMWP es uno de los índices más utilizados basados en macroinvertebrados para evaluar la contaminación orgánica en aguas superficiales (Ruiz-Picos et al., 2017). Originalmente fue desarrollado para el Reino Unido (Hawkes, 1998) y

se ha adaptado a la fauna local de muchos países, incluido Panamá (Cornejo et al., 2017). El BMWP/PAN se adaptó en función de la tolerancia a la contaminación orgánica de las familias de macroinvertebrados locales, siguiendo los métodos de Ruiz-Picos et al., (2017). El puntaje de BMWP en un sitio dado es la suma de los puntajes individuales de las familias presentes en ese sitio, que van desde 1 (familias más tolerantes) a 9 (familias más sensibles).

2.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos

La bioconcentración es el término más popular para describir el proceso mediante el cual los plaguicidas ingresan a los organismos directamente del agua a través de las branquias o a través de los tejidos epiteliales. En contraste, la bioacumulación incluye el efecto de la ingesta dietética a través del consumo de alimentos o la ingesta de sedimentos del fondo (Miyamoto et al., 1990). Cuando los niveles de un plaguicida, acumulados por organismos, se concentran a través de dos o más niveles tróficos en una red alimenticia, el proceso se denomina biomagnificación (Connell 1988).

Entre el rango de condiciones fisiológicas que existen en los organismos acuáticos, el contenido de lípidos se considera como uno de los determinantes más importante para la bioconcentración. También, la temperatura y la química del agua, como la salinidad, el pH y el contenido de materia orgánica particulada disuelta o adsorbida, también pueden afectar la bioconcentración (Katagi, 2010).

La bioconcentración de plaguicidas y otros productos químicos en organismos acuáticos se realiza principalmente por difusión pasiva a través de branquias, tejidos epiteliales o pueden ingerir sustancias químicas a través de la ingesta de sedimentos o

presas contaminadas (Katagi, 2010). Esta bioconcentración se controla principalmente, por las propiedades físicoquímicas de los químicos involucrados, la disposición fisiológica de cada organismo y las condiciones ambientales circundantes (Katagi, 2010).

La determinación de compuestos de plaguicidas (por ejemplo, organoclorados, organofosforados, piretroides, triazinas) con metodologías específicas basadas en la combinación de tecnologías de extracción eficientes y cromatografía de líquidos con espectrometría de masas (CL-EM) ha permitido la cuantificación precisa de la contaminación orgánica en insectos terrestres como en organismos acuáticos (Belenguer et al., 2014; Stöckelhuber et al., 2017).

El paso clave en estas metodologías es la preparación de la muestra, debido a la amplia naturaleza físicoquímica de las moléculas, que va desde insecticidas organoclorados altamente lipófilos hasta compuestos hidrofílicos como algunos herbicidas (Jesús et al., 2018). Para plaguicidas apolares y polares medios, la detección de residuos de plaguicidas se logra comúnmente a través del análisis con cromatografía de gases (GC) acoplado a un cuádrupolo simple (SQ), con menos frecuencia, al triple espectrómetro de masas (QQQ) después de la extracción (Lesueur et al., 2008). La metodología recientemente modificada (Jesús et al., 2018) QuEChERS (para el método Quick, Easy, Rugged and Safe) (Anastassiades et al., 2003), ha sido aplicada con frecuencia en diversas matrices de alimentos (Lesueur et al., 2008).

En contraste, solo muy pocos métodos han sido descritos en la literatura que trata el análisis de plaguicidas en artrópodos y gastrópodos, y es por ello, que existe muy poca información sobre bioacumulación de plaguicidas en macroinvertebrados acuáticos. Mongalo et al., (2015) evaluaron plaguicidas en agua, sedimento y en ostiones en la

laguna de Bluefields en Nicaragua. Encontraron trazas de plaguicidas (OP-DDE, $<1.3 \text{ mg Kg}^{-1}$); DDE-p.p', $<0.36 \text{ mg Kg}^{-1}$ y Clorpirifos, $<1.1 \text{ mg Kg}^{-1}$) en tejidos de ostiones que no fueron detectados ni en agua ni en sedimentos. Estos autores sustentan sus hallazgos en la acción filtradora de los ostiones y concluyen que la detección de estos plaguicidas infiere la existencia de ellos en la laguna en menores concentraciones. Recientemente, Jesús et al., (2018) determinaron los residuos de plaguicidas en muestras de ninfas de Odonata en el departamento de Río Negro, Uruguay. Estos autores detectaron metsulfuron-metilo ($1 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$), un herbicida muy empleado en Uruguay y mencionan que, debido a su baja dosis de aplicación (500 g/ha) rara vez se encuentra en los programas de monitoreo de la calidad del agua dulce.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la parte alta de la cuenca del río Chiriquí Viejo (102), específicamente en el corregimiento de Cerro Punta, provincia de Chiriquí. El río Chiriquí Viejo se localiza entre las coordenadas 8° 15' y 9° 00' de latitud Norte y 82° 15' y 83° 00' de longitud Oeste. La cuenca del río Chiriquí Viejo se caracteriza en la parte alta por un caudal promedio de 6.43 m³/s, con una temperatura promedio anual entre 10.95 a 18.75 °C y con precipitaciones de 3,341 mm en promedio anual. La vegetación original de la cuenca se encuentra alterada principalmente por la deforestación para fines agrícolas o ganaderos (ANAM, 2013).

Establecimos un total de 16 estaciones de muestreo (13 estaciones para el estudio de campo y 3 estaciones de recolecta de odonatos para el estudio de laboratorio), que fueron evaluadas entre 2015 y 2018 (Figura 1; Anexos: Cuadro 1). Para determinar el impacto de los plaguicidas en la estructura de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos (*estudio de campo*), evaluamos 13 estaciones de muestreo, de mayo de 2015 a junio de 2017, con un total de 20 campañas de recolecta (marzo, mayo, agosto y octubre de 2015 y muestreos mensuales de enero a octubre 2016 y de enero a junio 2017; Fig. 2-3 y 4a). Estas estaciones se ubicaron en afluentes de 1er y 2do orden, que contaran con un gradiente de degradación ambiental, es decir, desde estaciones de muestreo con poca

influencia antrópica hasta aquellas con evidente deterioro en sus condiciones naturales producto de las actividades agrícolas.

Para determinar las trazas de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados (*estudio de laboratorio*), establecimos 3 estaciones de muestreo de 1er y 2do orden (Fig. 4b-d), que contarán con sustrato de arena o sedimento fino y vegetación de orilla, que son los dos hábitats preferidos para las ninfas de odonatos y que además contarán con un gradiente de actividades agrícolas. Estas estaciones fueron visitadas en dos ocasiones; en época lluviosa de 2017 y otra en época seca de 2018.

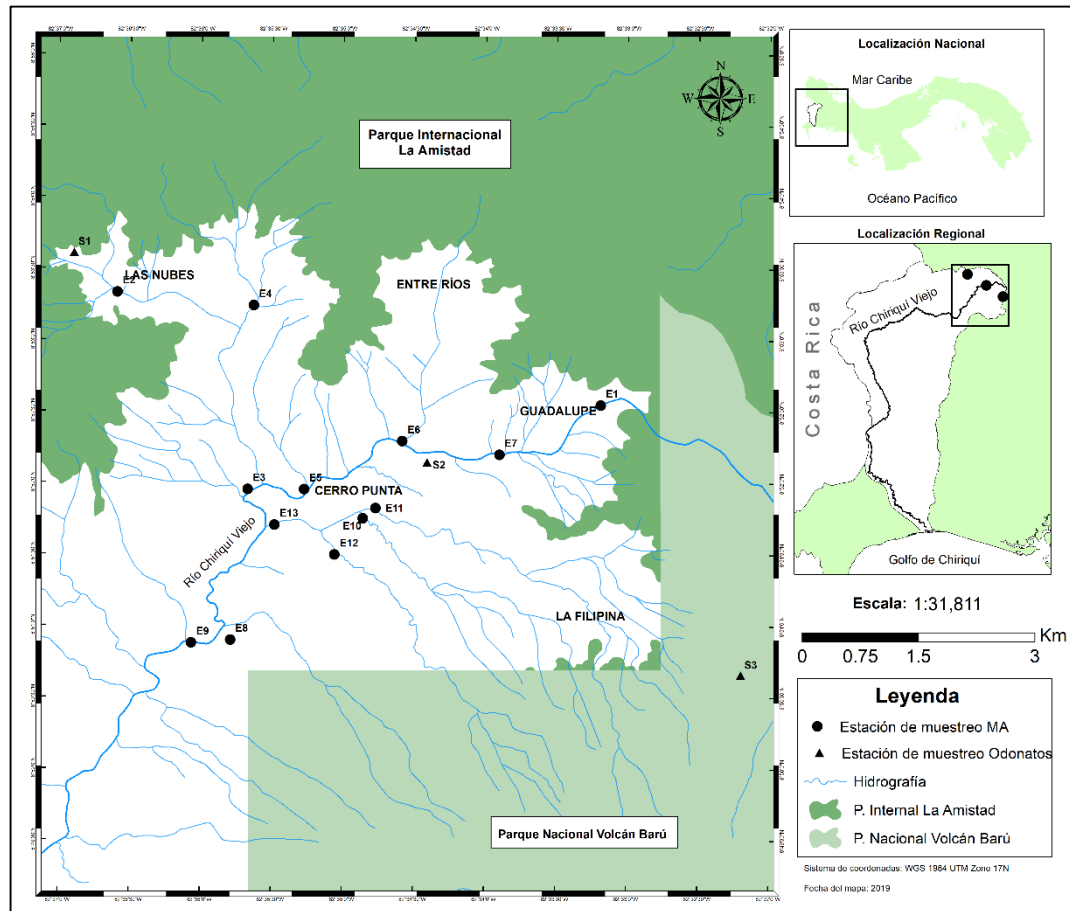


Figura 1. Mapa con la ubicación de las estaciones de muestreo en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo, provincia de Chiriquí.

Los círculos negros simbolizan las estaciones de muestreo (E1-E13) que fueron evaluadas para determinar el impacto de los plaguicidas en la estructura de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos (*estudio de campo*). Los triángulos negros simbolizan las estaciones de muestreo (S1-S3) que fueron evaluadas para determinar las trazas de plaguicidas en tejido de ninfas de odonata (*estudio de laboratorio*).

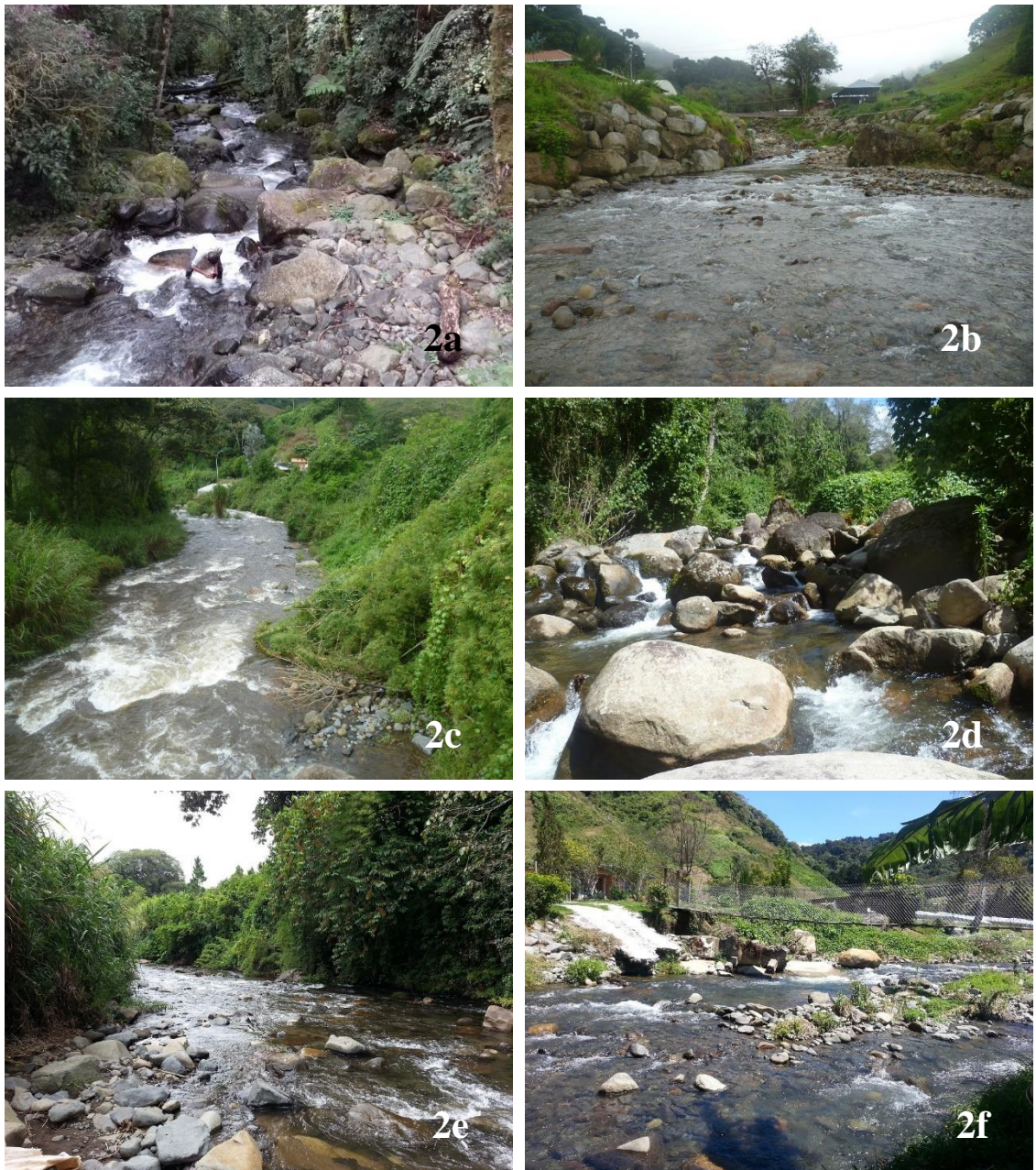


Figura 2(a-f). Estaciones de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (*Estudio de campo*). 2a) Los Quetzales (E1), 2b) Las Nubes (E2), 2c) Garita Final (E3), 2d) Los González (E4), 2e) Garita Afuera (E5), 2f) Entre Ríos (E6).

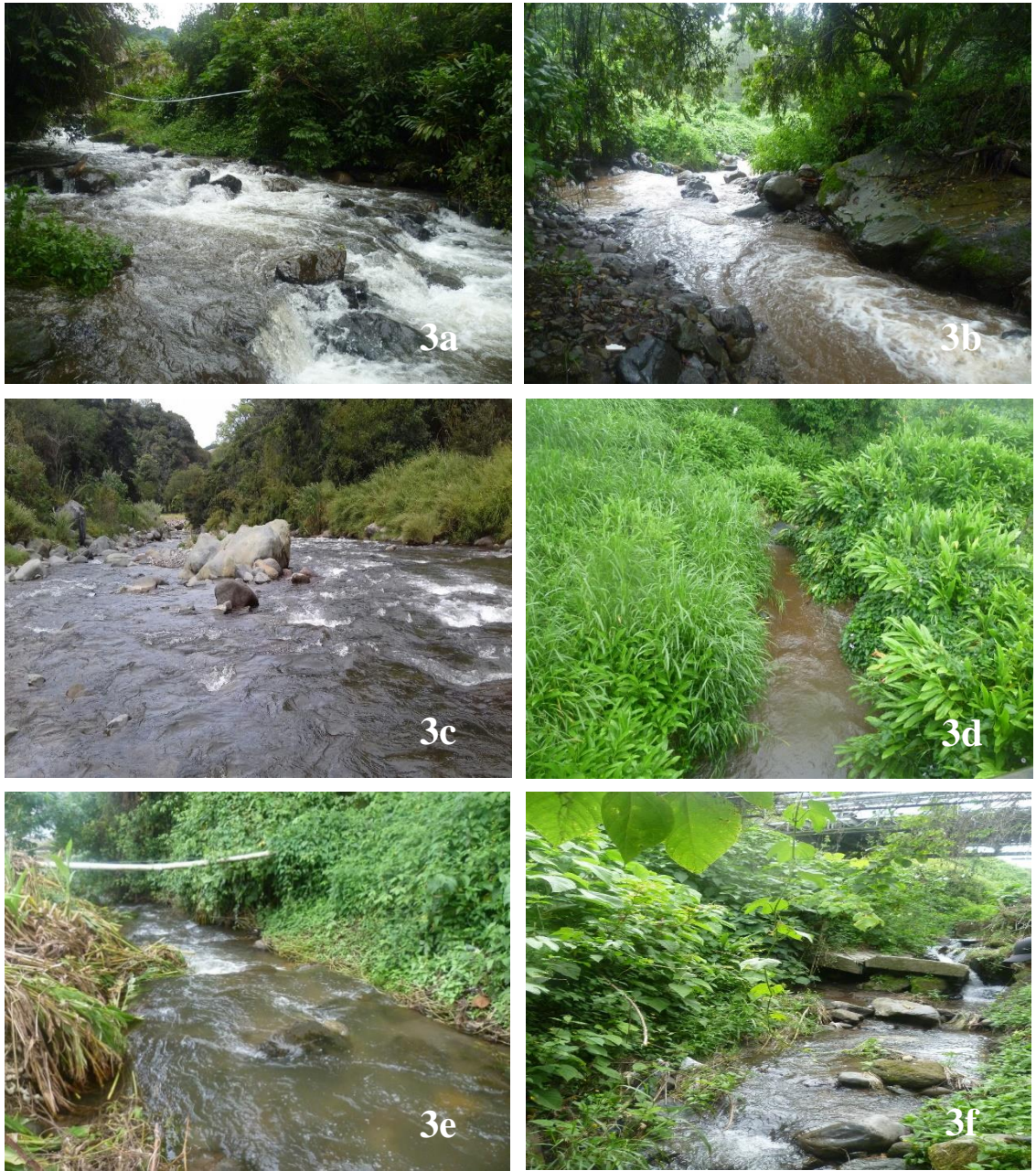


Figura 3 (a-f). Estaciones de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (*Estudio de campo*). 3a) Barrio Guadalupe (E7), 3b) Nueva Suiza (E8), 3c) Salida de Nueva Suiza (E9), 3d) Cultivos Selectos (E10), 2e) Entrada Escuela (E11), 2f) ANEF (E12).



Figura 4 (a-d). Estación de muestreo de macroinvertebrados acuáticos en el área de Cerro Punta (*Estudio de campo*) 4a) Isópulos (E13). 4(b-d) Estaciones de muestreo de ninfas de odonata para la determinación de residuos de plaguicidas (*Estudio de laboratorio*). 4b) Quebrada ubicada dentro del Parque Internacional La Amistad (PILA, S1), 4c) Guadalupe (S2), y 4d) Respingo (S3)

3.2. Estudio de campo sobre la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos.

3.2.1. Caracterización hidromorfológica

En cada estación, se seleccionó un alcance de flujo representativo del río de 100 m de longitud, donde caracterizamos el hábitat utilizando el protocolo de evaluación rápida del hábitat desarrollado por Barbour et al (1999) para la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para flujos de alto gradiente. Este protocolo consiste en la calificación de 10 parámetros (sustrato disponible, empotramiento del sustrato, combinaciones de velocidad / profundidad, patrón de sedimentación, estado del flujo del canal, alteración del canal, frecuencia de rápidos, estabilidad ribereña, protección de la vegetación y ancho de la zona de vegetación) en una escala numérica de 0 a 20 (máximo) (Anexos: Cuadro 2). Cada variable se evalúa de forma independiente y la suma total de puntos indica una de las cuatro categorías de calidad del hábitat (óptima, subóptima, marginal o pobre) (Anexos: Cuadro 3).

Por otro lado, la composición del sustrato se caracterizó visualmente como la proporción de diferentes clases de tamaño de sustrato mineral (roca, guijarro, grava, arena gruesa y fina y arcilla) y CPOM y FPOM se cuantificaron visualmente como la proporción de lecho de arroyos cubierto por cada tipo de materia orgánica (Barbour et al., 1999).

3.2.2. Parámetros físicoquímicos

En cada estación se midieron ocho parámetros físicoquímicos del agua (Anexos: Cuadro 4). Se utilizó un multiparámetro (YSI 556) para medir *in situ* pH, temperatura (°C), conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$) y turbiedad (mg L^{-1}). Se colectaron dos sets de muestras de agua y fueron transportadas al laboratorio en cajas con hielo. El primer set de muestra de agua fue analizado en el Laboratorio de Calidad Ambiental del Ministerio de Ambiente para oxígeno disuelto (mg/L), sólidos totales (mg L^{-1}) utilizando un método gravimétrico (SM 2540 B), nitratos (NO_3) y fosfatos (PO_4) utilizando métodos espectrofotométricos (SM 4500-NO3 B y SM 4500-P B5 y E) (Rice et al., 2012). El segundo set de muestras de agua fue analizado para detectar plaguicidas en el Laboratorio de Sanidad Vegetal del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (ver siguiente sección).

3.2.3. Determinación de plaguicidas en agua

Se recogió una muestra de agua de 2 litros en cada sitio desde la mitad de la corriente y en el centro de la columna de agua. Las muestras se refrigeraron de inmediato y se transportaron al laboratorio, y se mantuvieron a 4 °C hasta que se realizó el análisis dentro de las 24 h posteriores a la colecta. Las muestras se filtraron y analizaron mediante extracción en fase sólida utilizando columnas C18 (Strata Phenomenex), previamente acondicionadas con 6 ml de metanol seguido de 6 ml de agua. Los plaguicidas se determinaron utilizando dos métodos: microextracción líquido-líquido (De Romedi et al., 2011) e inyección directa (Reemtsma et al., 2013).

El primer método fue utilizado para organofosforados, organoclorados y piretroides. Los plaguicidas se extrajeron con acetato de etilo y los residuos se

cuantificaron mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (GC-MSMS; límite de cuantificación: 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$). El segundo método se utilizó para triazinas, carbamatos y otros plaguicidas polares. Las muestras se inyectaron y analizaron con cromatografía líquida de alto rendimiento y espectrofotometría de masas (LC-MSMS; límite de cuantificación: 0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$) y ionización por electronebulización con adquisición dinámica (modo MRM), lo que evita la extracción en fase sólida.

El porcentaje de recuperación osciló entre 70 y 110% (CV = 11%). La linealidad se midió mediante el coeficiente R^2 para las curvas de calibración de plaguicidas individuales, lo que siempre resultó en ≥ 0.99 . Cada conjunto de muestras se analizó por duplicado, simultáneamente con un blanco de laboratorio. Para evitar los efectos de la matriz, utilizamos una curva de calibración de matriz coincidente.

3.2.4. Comunidad de macroinvertebrados acuáticos

Los macroinvertebrados fueron recolectados utilizando una red D de 30 cm de ancho con una malla de 0,5 mm. En cada sitio tomamos tres muestras de 2 m de largo, que posteriormente se agruparon, con un área total de 1,8 m^2 muestreados por sitio. Las muestras se tomaron en una variedad de hábitats, incluyendo sustrato mineral, parches de hojarasca y vegetación de orilla, en proporciones similares a su presencia en la corriente.

Los contenidos netos se transfirieron a un tamiz de malla de 0,5 mm y luego a una bandeja blanca, donde se clasificaron de forma preliminar y se descartaron las piedras, las hojas y madera. El resto de la muestra se introdujo en envases de plástico etiquetados con etanol al 96% y se transfirió al Laboratorio de Macroinvertebrados de Agua Dulce en el COZEM-ICGES (Panamá). Los macroinvertebrados se clasificaron e identificaron a nivel

de familia, ya que es el nivel taxonómico requerido para calcular los índices SPEAR y BMWP (Hawkes, 1998; Beketov et al., 2009), utilizando claves de identificación para taxones tropicales (Gutiérrez-Fonseca, 2010; Menjivar Rosa, 2010; Pacheco-Chaves, 2010; Springer et al., 2010).

3.2.5. Cálculo de las unidades tóxicas

Para tener un valor estándar de toxicidad asociada con las concentraciones de plaguicidas medidas en cada sitio, utilizamos el enfoque de Unidad Tóxica (TU) (Peterson, 1994). Las TU se dieron como TU máxima (TU_{max}), un enfoque simple ampliamente utilizado en la literatura (Liess & von der Ohe, 2005; Schäfer et al., 2012; Schäfer et al., 2013). Para calcular el TU_{max}, consideramos todos los plaguicidas encontrados en las muestras en cada sitio, excluyendo aquellos que están por debajo del límite de cuantificación. Dado que los datos de toxicidad para macroinvertebrados de la corriente tropical no están disponibles, calculamos TU_{max} en base a los datos disponibles para *Daphnia magna* (Liess y von der Ohe, 2005) en base a la siguiente ecuación:

$$TU_{(D.magna)} = \max_{i=1}^n (\log(C_i / LC50_i)) \quad (1)$$

Donde TU (*D. magna*) es el TU_{max} de n plaguicidas detectados en el sitio de estudio, C_i es la concentración del plaguicida i ($\mu\text{g L}^{-1}$) y $LC50_i$ es la concentración letal media aguda de 48 h ($\mu\text{g L}^{-1}$) informada para plaguicidas i en *D. magna*.

3.2.6. Cálculo de los índices bióticos

Para calcular el índice de SPEAR, los taxones se clasificaron en especies en riesgo (SPEAR) o especies sin riesgo (SPEnotAR) según varios rasgos ecológicos y fisiológicos (Liess y von der Ohe, 2005), que se obtuvieron de una base de datos en línea (<http://www.systemecology.eu/spear/spear-calculator/>). El valor de SPEAR para cada sitio se calculó de la siguiente manera:

$$\text{SPEAR} = \frac{\sum_{i=1}^n \log(x_i+1) \times y}{\log(x_i+1)} \times 100 \quad (2)$$

Donde n es el número de taxones, x_i es la abundancia del taxón i, y y es 1 si el taxón i está clasificado como SPEAR, de lo contrario, 0.

El índice BMWP es uno de los índices más utilizados basados en macroinvertebrados para evaluar la contaminación orgánica en arroyos (Ruiz-Picos et al., 2017). Originalmente, fue desarrollado para el Reino Unido (Hawkes, 1998) y se ha adaptado a la fauna local de muchos países, incluyendo a Panamá (BMWP/PAN; Cornejo et al., 2017). El BMWP/PAN se adaptó en función de la tolerancia a la contaminación orgánica de las familias de macroinvertebrados locales, siguiendo los métodos de Ruiz-Picos et al. (2017). El puntaje de BMWP en un sitio dado es la suma de los puntajes individuales de las familias presentes en ese sitio, que van desde 1 (familias más tolerantes) a 9 (familias más sensibles).

3.2.7. Análisis estadísticos

Primero exploramos los diagramas de dispersión bivariados y las correlaciones de Pearson (función ‘correlación de’ `chart.Correlation` en el paquete `PerformanceAnalytics` R) para seleccionar las variables ambientales más relevantes y no correlacionadas ($r \geq 0,70$) que se utilizaron en análisis posteriores (Zuur et al., 2009). Las variables seleccionadas fueron T_{Umax} (en adelante, toxicidad por plaguicidas), concentración de SRP (en adelante enriquecimiento de nutrientes), el índice de deposición de sedimentos (en adelante sedimentación, que está inversamente relacionada con el índice) y la temperatura del agua (en adelante calentamiento). Las demás variables fueron descartadas.

En segundo lugar y para probar si en efecto los factores estresantes reducirían la abundancia y la riqueza y alterarían la composición de la comunidad de macroinvertebrados, examinamos la influencia de todas las variables ambientales anteriores sobre la abundancia de macroinvertebrados, la riqueza taxonómica y los índices bióticos (SPEAR y BMWP/PAN). Para ello, utilizamos modelos de regresión múltiple que tienen en cuenta la autocorrelación temporal. Los modelos se ajustaron utilizando la función `gls` (mínimos cuadrados generalizados) y se incluyó la autocorrelación temporal utilizando la estructura de correlación `corAR1`, ambas del paquete `nlme` R (Pinheiro et al., 2019). Se inspeccionaron los residuos de cada modelo para asegurarnos de que no existieran patrones visuales y que no se violaran los supuestos del modelo lineal (por ejemplo, supuestos de independencia y homogeneidad). Para ese fin, los modelos permitieron que la dispersión residual variara en relación con la corriente. La idoneidad de esta estructura de varianza y la estructura de correlación

corAR1 se validó mediante la comparación de modelos con y sin estos componentes como residuos de ambos modelos, y se evaluó utilizando el criterio de información de Akaike (AIC). Por último, el modelo ajustado se definió con selección hacia atrás mediante la eliminación de cualquier variable explicativa no significativa y la evaluación de mejoras del modelo con AIC (Zuur et al., 2009). En tercer lugar, exploramos los efectos de la toxicidad de los plaguicidas (cuantificada como TU_{max}), el enriquecimiento de nutrientes (concentración de SRP) y la alteración del hábitat (índice de deposición de sedimentos –inversamente relacionado con la sedimentación- y el calentamiento) en la composición de la comunidad de macroinvertebrados mediante el análisis de redundancia (RDA; Legendre & Legendre 1998), donde el conjunto de datos ambientales predice el conjunto de datos de la especie.

Para probar que los efectos combinados de los factores estresantes son mayores que los efectos únicos, cuantificamos la cantidad de variabilidad en la composición de la comunidad de macroinvertebrados que se puede atribuir a cada uno de los factores ambientales anteriores, así como a su contribución compartida. Para ello, utilizamos un análisis de redundancia parcial (Borcard et al., 2004). La cantidad de variabilidad explicada por cada factor y su contribución compartida se basó en el R² ajustado (R²_{adj}) y su significación estadística se probó mediante pruebas de permutación (999 aleatorizaciones).

Los datos de macroinvertebrados se transformaron en Hellinger antes de ambos procedimientos para proporcionar una estimación imparcial de la partición de la varianza basada en pRDA. Se realizaron pruebas de partición de varianza y de permutación utilizando las funciones `varpart` y `cca.anova`, respectivamente, del paquete `vegan` R

(Oksanen et al., 2018). Los resultados se presentaron utilizando un diagrama de Venn, que se dibujó en Inkscape®, un editor de gráficos vectoriales de código abierto.

3.3. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos

Como ha quedado evidenciado en la sección de revisión bibliográfica, existe escasa información publicada que detalle metodologías de recuperación de trazas de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos. La metodología más completa y reciente, ha sido publicada por Jesús et al., (2018), en ninfas de odonata. Esto nos obligó a emplear la misma matriz (ninfa de odonatos) y metodologías de recuperación para probar que la bioacumulación de plaguicidas en tejidos será mayor en zona con mayor intensidad en el uso de plaguicidas.

Las ninfas de odonata fueron recolectadas en dos tipos de microhábitats: en vegetación sumergida (S2) y en sedimento (S1 y S3). El muestreo consistió en la remoción del sustrato sin tiempo predeterminado con una red tipo D con apertura de malla de 500 μm , recorriendo el sitio en 10 metros de largo (Fig. 5-8). Las muestras eran colocadas en una bandeja de metal y se separaban las ninfas de odonatos encontrados y se colocaban en un frasco limpio de 600 ml y se enfriaron en un cooler con hielo para su transporte al laboratorio.



Figura 5. Actividades agrícolas cercanas a las fuentes de agua recolectando ninfas de odonatos

Figura 6. Recolecta de ninfas de odonatos



Figura 7. Recolecta de ninfas de odonatos con red D

Figura 8. Revisión y separación de las ninfas de odonatos en bandejas

2.3. Análisis de muestras de tejido de odonatos en el laboratorio

Se utilizó la metodología modificada por Jesús et al., (2018) para el análisis de múltiples residuos de plaguicidas en odonatos. Las muestras fueron analizadas por triplicado mediante dos técnicas analíticas: cromatografía líquida y de gas acoplada a espectrometría de masas de triple cuádruplo LC-MSMS y GC-MSMS, respectivamente.

Preparación de las muestras (Fig. 9 y 10)

Las muestras de ninfas de odonatos se secaron con papel toalla para extraerle la mayor cantidad de humedad del cuerpo de los individuos (Fig. 9). Posteriormente, se procedió a macerar y homogenizar con un mortero de cerámica (Fig. 10).

Proceso de extracción (Fig. 11)

Una porción de 0,2 g de muestra homogenizada se pesó en un tubo de microcentrífuga de 2 ml y se agregaron 0,5 ml de agua destilada, 1 ml de Acetonitrilo y se agitó en vórtex durante 1 minuto. Se añadieron sales de citrato (0,4 g de MgSO_4 , 0,1 g de NaCl , 0,1 g de citrato de sodio deshidratado, 0,05 g de citrato de hidrógeno disódico sesquihidrato), se agitaron de nuevo y el tubo se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm. El extracto se congeló durante 12 h.

Proceso de limpieza (Fig. 12 y 13)

Se filtró con una jeringa colocando algodón en la punta y se transfirió a un tubo de 5 ml (Fig. 12). Se agregaron las siguientes sales: 17,5 mg de PSA y 17,5 mg de C18 y una proporción de MgSO_4 : GCB (59: 1) 150 mg, se agitó 30 segundos en vortex, se centrifugó durante 5 min a 5000 °C rpm (Fig. 13).

Análisis instrumental (Fig. 14)

El extracto final se acidificó con ácido fórmico al 5% en acetonitrilo $10 \mu\text{L ml}^{-1}$. Se inyectó una parte alícuota de extracto directamente en LC-MS / MS. Una parte de la alícuota de $100 \mu\text{L}$ del extracto para el análisis de LC-MS / MS se llevó a sequedad bajo una corriente de N_2 , se reconstituyó con $50 \mu\text{L}$ de acetonitrilo y se inyectó en LC-MS / MS. Otra parte alícuota de $250 \mu\text{l}$ de extracto se sometió a sequedad bajo una corriente de N_2 , se reconstituyó en $100 \mu\text{l}$ en acetato de etilo como disolvente para inyección en GC-MS / MS.

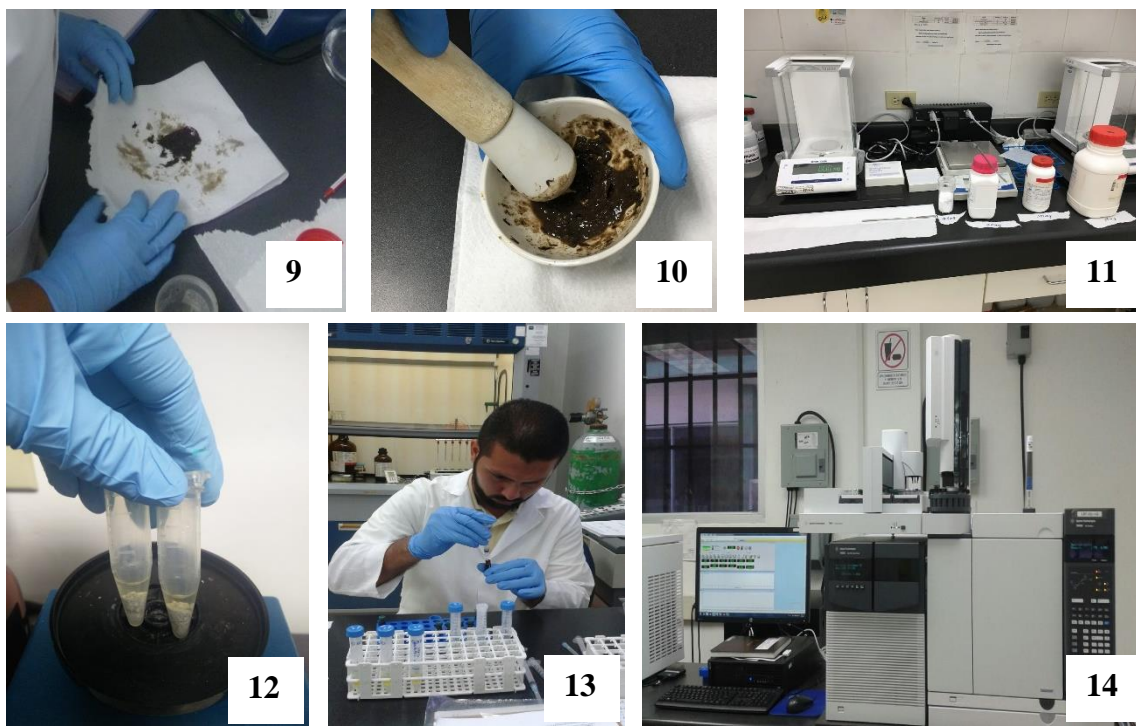


Figura 9. Proceso de secado de la muestra.

Figura 10. Proceso de macerado de la muestra.

Figura 11. Proceso de extracción.

Figura 12. Proceso de filtración.

Figura 13. Proceso de limpieza con sales.

Figura 14. Análisis instrumental en LC-MS / MS

IV. RESULTADOS

4.1. Efecto de los plaguicidas y de la actividad agrícola en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos

4.1.1. Caracterización hidromorfológica de las estaciones de muestreo

La evaluación de la calidad de hábitat entre las estaciones de muestreo resultó en cuatro condiciones. La estación E1 (182.5 ± 4.9) que fue la única en presentar calidad de hábitat óptima. En contraste, las estaciones E11 (54.8 ± 2.7) y E12 (58.5 ± 2.8) fueron las que presentaron calidad de hábitat pobre. Las demás estaciones oscilaron entre calidad de hábitat subóptimo (E3, E4, E5, E6, E9 y E13) o marginal (E2, E7, E8, E10 y E12). Las estaciones de muestreo se caracterizaron principalmente por mayores tipos de sustrato duro (roca, adoquín y grava) y menores fracciones de tipos de sustrato fino (arena y arcilla). Los mayores porcentajes promedio de MOPG se registraron en las estaciones E1, E3, E4, E5, E6 y E13. Mientras que en las estaciones E2, E7, E8, E10, E11 y E12 se encontraron mayor porcentaje promedio de MOPF (Anexos: Cuadro 4).

4.1.2. Parámetros fisicoquímicos

Las corrientes de estudio fueron naturales, con un pH de 7.5 en promedio (rango entre los sitios de estudio: 6.7–7.9); la temperatura del agua fue de 16.1 °C (rango: 13.3–18.2); la conductividad fue 44.2 $\mu\text{S s}^{-1}$ (rango: 8.3–111.4); la turbidez fue de 21.6 mg L⁻¹ (rango: 2.3–82.7); la saturación de oxígeno disuelto fue del 75.2% (72.9–77.3); los

sólidos totales fueron 130.1 mg L⁻¹ (rango: 31.1–342.4); La concentración de NO₃ fue de 12.6 mg L⁻¹ (rango: 1.5–33.5); y la concentración de PO₄ fue de 0.23 mg L⁻¹ (rango: 0.04–0.53) (Anexos: Cuadro 5).

4.1.3. Plaguicidas en agua

Detectamos 29 plaguicidas en total, con 12 plaguicidas por sitio en promedio (rango: 8-17). Estos incluyeron 19 insecticidas (en su mayoría clorpirifos y DDE-p.p', que estaban presentes en todos los sitios de estudio; y diazinón, HCB-gamma y mirex, presentes en el 60% de los sitios), 9 fungicidas (en su mayoría carbendazim e iprobenfos presentes en 60 % de sitios) y un herbicida (metribuzin) (Anexos: Cuadro 6). Los plaguicidas Chloropyrifos y DDE-p.p' se registraron en todas las estaciones de muestreo y las estaciones E07 y E11 presentaron la mayor variedad de plaguicidas con 17 y 15 compuestos diferentes, respectivamente. T_{Umax} tuvieron un promedio de -1.64 (rango: 0.24–4.46) (Anexos: Cuadro 7).

4.1.4. Abundancia y riqueza taxonómica de macroinvertebrados

Recolectamos 43,294 individuos de macroinvertebrados de 57 familias (Anexos: Cuadro 8). Las familias más comunes fueron Simuliidae (Diptera; 33.3 % de la abundancia total), Baetidae (Ephemeroptera; 26.3 %), Chironomidae (Diptera; 18.6 %) y Physidae (Basommatophora; 4.6%). Estas familias representan el 82.8 % del total recolectado para el área de estudio.

De las 13 estaciones evaluadas, la estación S1 fue la que presentó mayor riqueza de taxa (40 familias), seguida de la estación E4 (34 familias). En contraste, las estaciones con menor riqueza fueron E3 y E12, cada una con 17 familias. Con respecto a la

abundancia la estación E3 fue la que registro mayor número de individuos, mientras que la estación E12 ubicada en Cerro Punta ANEF fue la que presentó el menor número de individuos (Fig. 15).

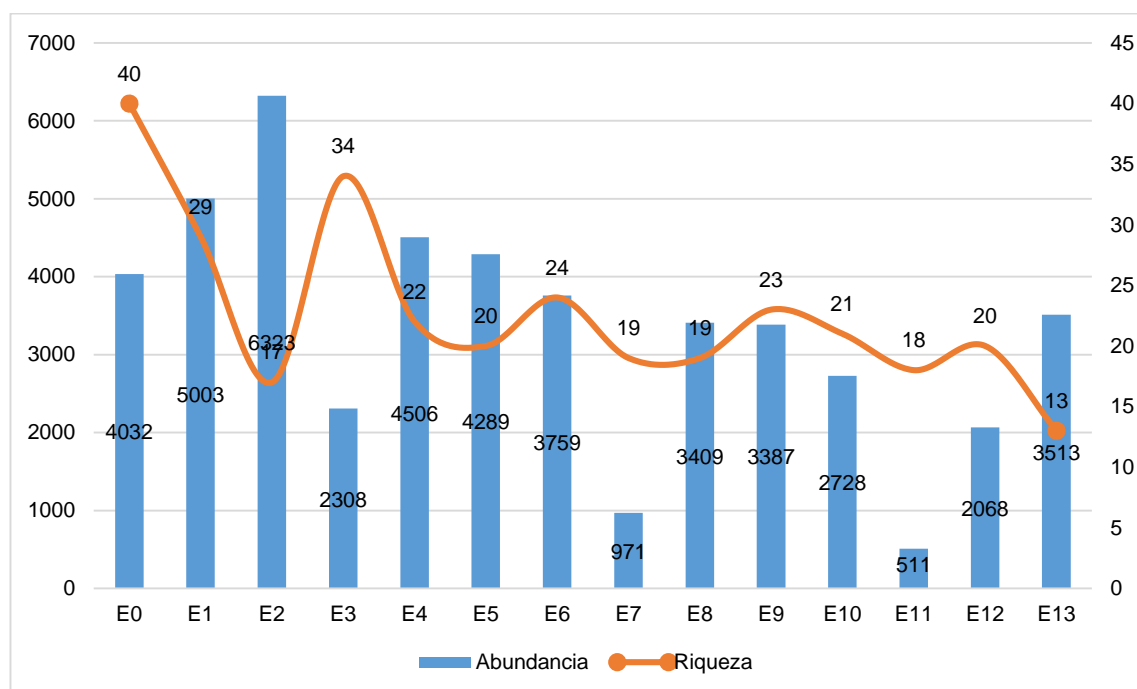


Figura 15. Abundancia de individuos y riqueza de géneros por estación de muestreo en el área de estudio durante el 2015, cuenca río Chiriquí Viejo.

4.1.5. Índices bióticos

El valor promedio de SPEAR fue 28.2 (rango: 0–73.4); El promedio de BMWP / PAN fue de 28.5 (rango: 1–103) (Anexos: Cuadro 9). La toxicidad por plaguicidas mostró una relación negativa con abundancia, riqueza y BMWP/PAN, pero ninguna relación con SPEAR; el enriquecimiento de nutrientes se relacionó negativamente con la riqueza, SPEAR y BMWP/PAN, pero no se relacionó con la abundancia; la sedimentación (es decir, la inversa del índice de sedimentación) mostró una relación negativa con abundancia, riqueza, SPEAR y BMWP/PAN; y el calentamiento se

relacionó negativamente con la abundancia, riqueza y BMWP/PAN, pero no se relacionó con SPEAR (Anexos: Cuadro 10).

Todos los factores de estrés explicaron el 62 % de la variación en la composición de la comunidad de macroinvertebrados. El enriquecimiento de nutrientes y la sedimentación estuvieron relacionados principalmente con RDA1 (ambos con relaciones positivas; tenga en cuenta que el índice de sedimentación está inversamente relacionado con la sedimentación), mientras que la toxicidad y el calentamiento de los plaguicidas se relacionaron con RDA2 (ambos con relaciones negativas) (Fig. 16).

Así, algunos taxones se relacionaron con sitios con niveles más bajos de toxicidad por plaguicidas, enriquecimiento de nutrientes y alteración del hábitat (sitios E2, E4 y E10; Hyalellidae, Leptophyphidae, Leptophlebiidae, Planariidae, Planorbidae, Ptilodactylidae, Odontoceridae y Tabanidae), y otros se asociaron a sitios más impactados, es decir, afectados por el enriquecimiento de nutrientes y la deposición de sedimentos (es decir, E8 y E12; Baetidae y Hydroptilidae) o niveles más altos de toxicidad y calentamiento de plaguicidas (es decir, E6 y E7; Chironomidae, Lumbriculidae y Psychodidae).

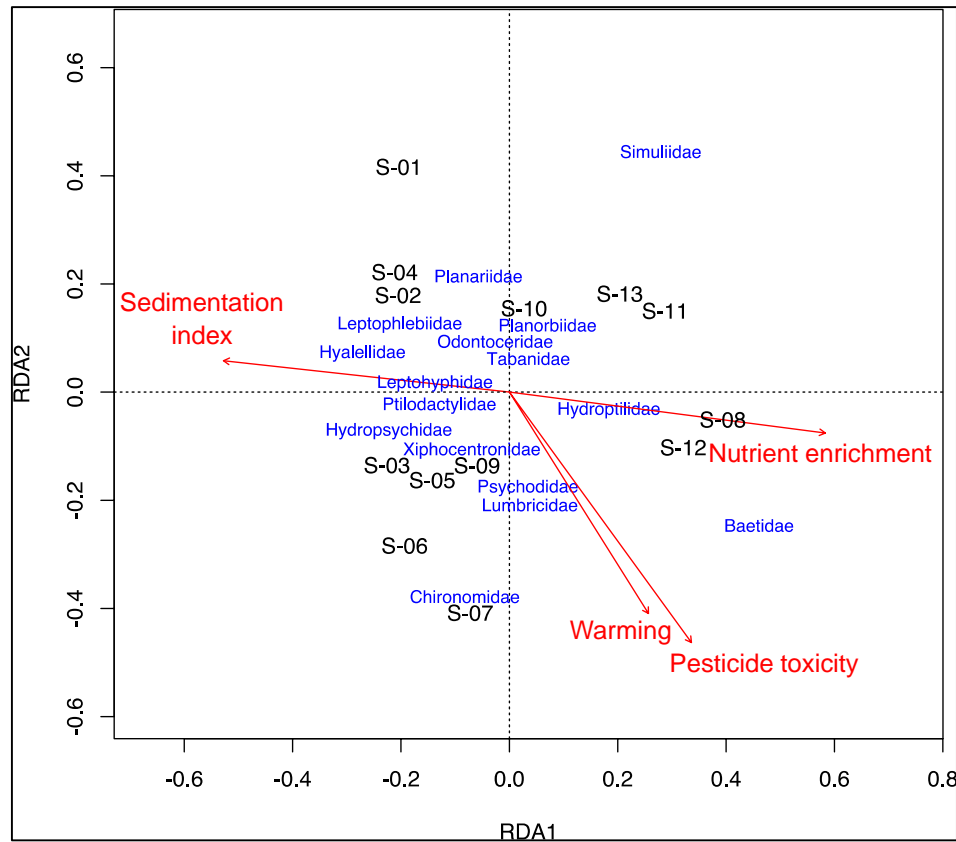


Figura 16. Análisis de redundancia (RDA) que explora los efectos de la toxicidad de los plaguicidas (cuantificada como TUMax), el enriquecimiento de nutrientes (concentración de SRP) y la alteración del hábitat (índice de deposición de sedimentos –inversamente relacionado con la sedimentación- y el calentamiento) en la composición de la comunidad de macroinvertebrados; RDA1 y RDA2 son los ejes RDA, y S1 a S13 son los sitios de muestreo.

El pRDA mostró que una gran proporción de la varianza en las comunidades de macroinvertebrados fue atribuida por el enriquecimiento de nutrientes ($R^2_{\text{adj}} = 0.51$) y la alteración del hábitat (sedimentación y calentamiento; $R^2_{\text{adj}} = 0.37$), mientras que la toxicidad por plaguicidas contribuyó a una menor proporción ($R^2_{\text{adj}} = 0.13$). La proporción de varianza en las comunidades de macroinvertebrados atribuible a la

combinación de toxicidad por plaguicidas y contaminación por nutrientes ($R^2_{\text{adj}} = 0.50$), toxicidad por plaguicidas y alteración del hábitat ($R^2_{\text{adj}} = 0.33$), enriquecimiento de nutrientes y alteración del hábitat ($R^2_{\text{adj}} = 0.46$), o todo el conjunto de predictores ambientales ($R^2_{\text{adj}} = 0.62$), fueron similares a sus contribuciones individuales, lo que sugiere que no hay efectos sinérgicos (Fig. 17; Anexos: Cuadro 11).

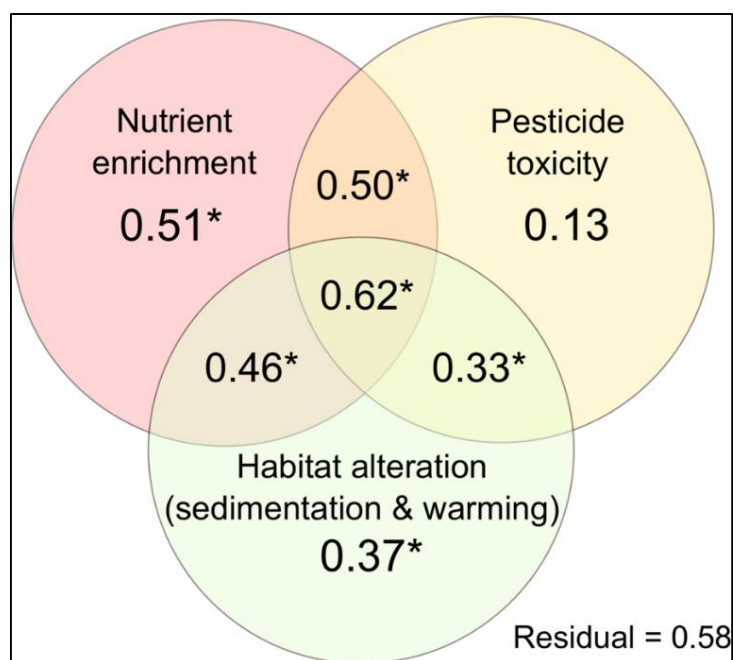


Figura 17. Análisis de redundancia parcial (pRDA) que cuantifica la cantidad de variabilidad en la composición de la comunidad de macroinvertebrados atribuible a la toxicidad de los plaguicidas (cuantificada como T_{Umax}), enriquecimiento de nutrientes (concentración de SRP) y alteración del hábitat (índice de deposición de sedimentos - relacionado en gran medida con la sedimentación y el deterioro) y su aporte compartido. La cantidad de variabilidad explicada por cada factor o su contribución compartida se basa en R^2_{adj} ; los asteriscos indican resultados significativos (a $p < 0.05$, basado en 999 permutaciones).

4.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos.

Los resultados presentados son preliminares y muestran una recuperación de dos plaguicidas organoclorados en tejido de los especímenes examinados en las estaciones ubicadas en zonas de la cuenca con mayor intensidad en el uso de plaguicidas. Los plaguicidas recuperados fueron: Bifentrin (5 a 13.07 ng/g en S2 y S3, respectivamente) y DDE-p'p' (13.61 ng/g en la S2; Fig. 18). Sin embargo, en el análisis de las muestras control (Fig. 19) se puede observar valores que están fuera del rango permisible (60 – 140 %). Esto es debido a una baja recuperación para algunos plaguicidas, lo que nos indica que el método debe seguir siendo optimizado.

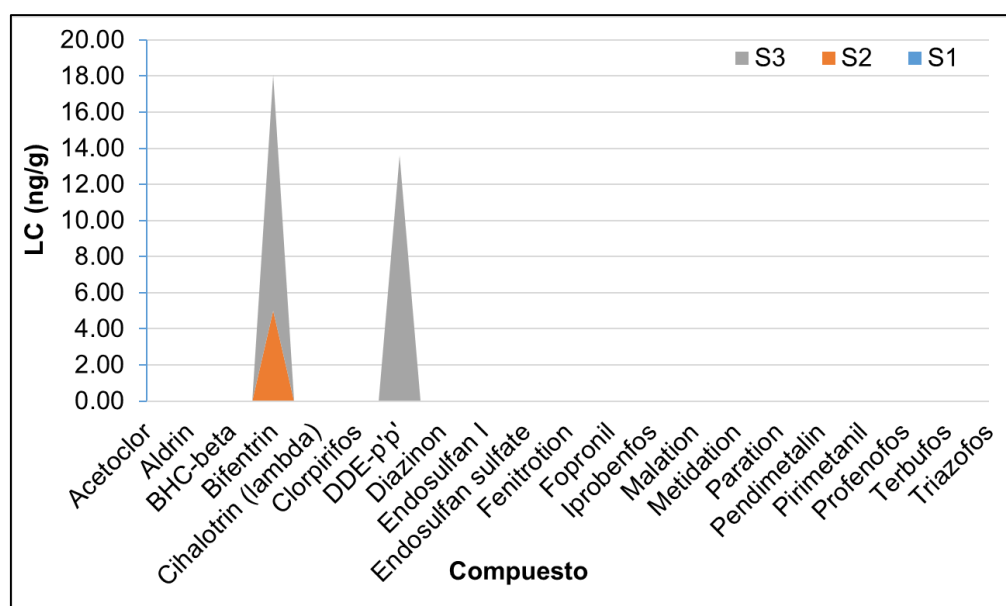


Figura 18. Análisis de trazas de plaguicidas en muestras de tejido de odonatos.

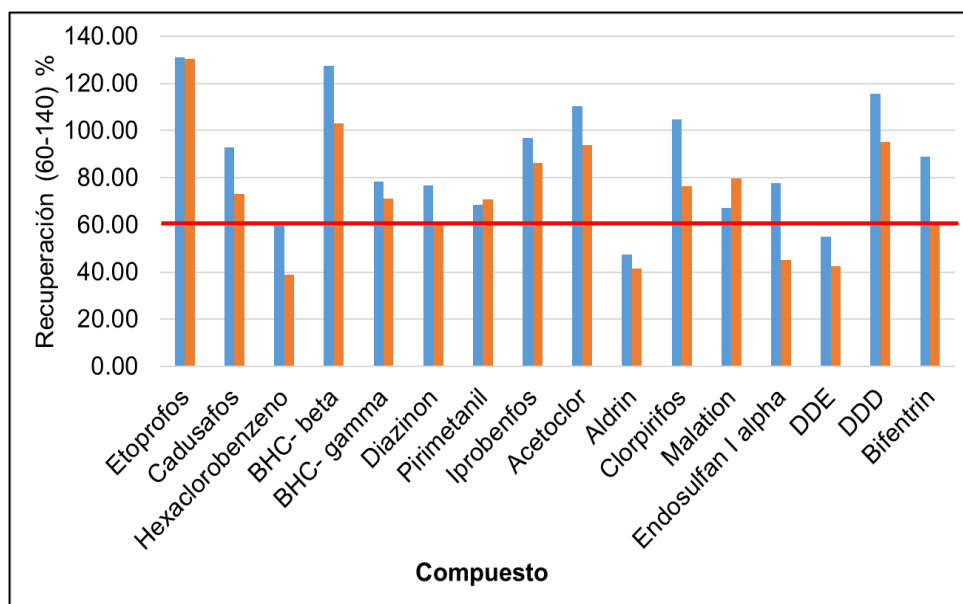


Figura 19. Análisis de las muestras control, con valores que están fuera del rango permisible (60 - 140 %).

V. DISCUSIÓN

5.1. Efecto de los plaguicidas y de la actividad agrícola en la estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos

La evaluación de los efectos de los plaguicidas y de las prácticas agrícolas en las comunidades de arroyos y ríos tropicales es un desafío urgente, dada la rápida conversión de los bosques tropicales en tierras agrícolas debido a la creciente demanda de las poblaciones humanas (Gibbs et al., 2010; Laurance et al., 2014). Sin embargo, los estudios son escasos y solo han abordado parcialmente este problema, ya que se han centrado en factores estresantes individuales como los plaguicidas (Castillo et al., 2006; Rasmussen et al., 2016; Deknock et al., 2019), concentraciones de nutrientes (Connolly y Pearson, 2013) o degradación del hábitat, principalmente deforestación (Iwata et al., 2003a; Lorion & Kennedy, 2009a; Suga & Tanaka, 2012) y sedimentación (Connolly y Pearson, 2007; Yule et al., 2010).

En este estudio y como lo predice nuestra hipótesis 1, demostramos que todos los factores estresantes estudiados, es decir, toxicidad por pesticidas, enriquecimiento de nutrientes y alteración del hábitat (examinados a través de la sedimentación y el calentamiento) pueden afectar a las comunidades de macroinvertebrados. La disminución de la riqueza taxonómica de macroinvertebrados y valores más bajos de un índice biótico (BMWP/PAN), se asoció con el aumento de la toxicidad por plaguicidas (cuantificado

como T_{Umax}). Otros estudios tropicales no han encontrado efectos de los pesticidas en la riqueza taxonómica de macroinvertebrados (Castillo et al., 2006; Rasmussen et al., 2016) o índices bióticos (Deknock et al., 2019), mientras que los estudios en áreas templadas han mostrado niveles reducidos de SPEAR (Liess y von der Ohe, 2005; Schafer et al., 2011; Hunt et al., 2017) y BMWP (Zamora-Muñoz et al., 1995; pero ver Liess et al., 2008) con mayor toxicidad por pesticidas. Aunque el índice BMWP fue diseñado para evaluar los efectos del enriquecimiento de nutrientes en macroinvertebrados (Armitage et al., 1983), también mostramos que está relacionado con los pesticidas. En contraste, el índice SPEAR, que fue diseñado específicamente para evaluar los efectos de los pesticidas en los macroinvertebrados (Liess et al., 2005), estaba más fuertemente relacionado con el enriquecimiento de nutrientes y la sedimentación. Esto puede deberse al hecho de que el índice SPEAR se basa en los rasgos fisiológicos de las especies templadas, principalmente el carácter asociado a la sensibilidad a los pesticidas, lo que destaca la necesidad de pruebas de toxicidad biológica con macroinvertebrados tropicales. En contraste, el BMWP/PAN, que ha sido adaptado para la fauna local por Cornejo et al. (2017), se relacionó con todas las variables ambientales relevantes, incluida la toxicidad por pesticidas, el enriquecimiento de nutrientes y la alteración del hábitat.

Como lo predice nuestra hipótesis 1, el hecho de que al menos uno de los índices empleados, así como la riqueza taxonómica, se redujeron como resultado de la acción de los factores de estrés evaluados, indica que estos actúan en combinación. Esto también fue respaldado por una redundancia parcial, que mostró la mayor variación en la composición de la comunidad de macroinvertebrados, explicado por la contribución compartida de los tres factores estresantes y los modelos aditivos, que evidenciaron que

los taxones más sensibles se asociaron a las mejores condiciones de todos los factores estresantes (es decir, niveles bajos de plaguicidas y nutrientes, y mayor calidad del hábitat), mientras que los taxones más tolerantes se asociaron a peores condiciones.

Nuestros análisis sugieren que los diferentes factores estresantes estudiados actúan por separado y en combinación. Sin embargo, se ha demostrado que múltiples factores estresantes interactúan de una manera compleja e impredecible (Ormerod et al., 2010), y tales interacciones pueden explorarse mejor en estudios experimentales, donde se pueden manipular fácilmente. Tales experimentos se han llevado a cabo principalmente en zonas templadas (por ejemplo, Piggott et al., 2012; Magbanua et al., 2016), y deben realizarse en los trópicos, junto con bioensayos de toxicidad en macroinvertebrados tropicales, ya que las estimaciones actuales se basan en bioensayos con *D. magna*. Aunque esta especie se usa a menudo como referencia para otros organismos, es probable que las respuestas de las especies tropicales muestren diferentes sensibilidades ambientales (Van den Berg et al., 2019).

5.2. Bioacumulación de plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos

A pesar de que los resultados obtenidos en el estudio de laboratorio son preliminares y que se requiere de la optimización de los métodos para la recuperación de más plaguicidas en tejidos, los hallazgos son novedosos. En primer lugar, los dos plaguicidas que se lograron recuperar en tejidos (Bifentrin y DDE-p'p'), han sido detectados en agua durante el estudio de campo. Sin embargo, las concentraciones a las cuales fueron recuperadas en tejido, son mayores a las registradas en campo, lo sugiere que se está dando un proceso de bioacumulación de estos componentes químicos en la

fauna local. En segundo lugar, como lo predice la hipótesis 2, las recuperaciones de plaguicidas se lograron en los especímenes recolectados en las estaciones ubicadas en zonas con mayor intensidad en el uso de plaguicidas (S2 y S3).

Desde el punto de vista de la protección del medio ambiente natural, la evaluación ecotoxicológica acuática de nuevos plaguicidas y muchos de los existentes se ha vuelto cada vez más importante. Debido a que los organismos acuáticos interactúan entre sí en la red alimenticia, el conocimiento de su tendencia a bioconcentrarse en el agua y de la exposición dietética es importante al evaluar los efectos de plaguicidas ambientales reales.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Proporcionamos evidencia sobre los efectos negativos del uso de plaguicidas y de las prácticas agrícolas en las comunidades de macroinvertebrados en la cuenca alta del río Chiriquí Viejo. Nuestro estudio de campo demostró una riqueza taxonómica reducida y valores más bajos en al menos uno de los índices bióticos empleados en los sitios más afectados la toxicidad por pesticidas, enriquecimiento de nutrientes y alteración del hábitat. Nuestro estudio de laboratorio demostró que se está dando un proceso de bioacumulación de estos compuestos químicos en la fauna local.

Los resultados en el estudio de campo resaltan la necesidad de (1) enfocarse en múltiples factores de estrés asociados con la agricultura en las cuencas tropicales; (2) realizar estudios experimentales de laboratorio que enfatizen diferentes factores de estrés (por ejemplo, temperatura y concentraciones de plaguicidas) y especies de macroinvertebrados de ríos tropicales, para establecer relaciones causales únicas y combinadas, dado que los estresores múltiples a menudo interactúan de forma compleja e impredecible; 3) realizar bioensayos de toxicidad aguda y crónica en macroinvertebrados locales empleando los plaguicidas registrados durante el estudio y 4) desarrollar métricas o índices que puedan distinguir los efectos de diferentes factores de estrés, que permitan brindar herramientas para una mejor gestión y conservación de cuencas de uso agrícola.

Recomendamos que los próximos estudios de campo incluyan métricas funcionales, como la descomposición de la hojarasca u otros procesos de los ecosistemas. Estas pueden ser herramientas útiles para detectar las respuestas de los ecosistemas a la contaminación orgánica. El uso de métricas estructurales y funcionales en combinación (por ejemplo, índices bióticos y tasas de procesos del ecosistema) proporciona una evaluación más completa de los efectos ecológicos de múltiples factores de estrés, que es particularmente necesaria en áreas tropicales, que son poco estudiadas y sujeto a una rápida transformación por actividades humanas.

Los resultados obtenidos en el estudio de laboratorio, resaltan la necesidad de 1) optimizar las metodologías para la recuperación de trazas de más plaguicidas en tejido de macroinvertebrados acuáticos y 2) realizar estas evaluaciones en macroinvertebrados de diferentes niveles tróficos para evidenciar la bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación de los plaguicidas reportados en el estudio de campo. Esto es particularmente importante, si consideramos que un estudio previo se recuperó una molécula de plaguicida en tejido que no se encontró en las matrices de agua y sedimento. Esto evidencia la importancia de la realización de este tipo de estudios y su potencial como mecanismo de alerta temprana en evaluación del estado de la salud de cuencas de uso agrícola.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAM. Informe de Monitoreo de la Calidad del Agua en las Cuencas Hidrográficas de Panamá, Compendio de Resultados, Años 2004-2005, Panamá, República de Panamá, 2006.
- ANAM. 2013. Informe de Monitoreo de la Calidad del Agua en las Cuencas Hidrográficas de Panamá, Compendio de Resultados, Años 2009 – 2013.
- ANDERSON, R. 1988. Toxicity Synthetic Pyrethroids Freshwater Invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8, 403-410.
- ARMITAGE, P.D., MOSS, D., WRIGHT, J.F. & FURSE, M.T. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running- water sites. *Water Research*, 17, 333-347.
- AROCENA, R. 1996. La comunidad bentónica como Indicadora de zonas de degradación y recuperación en el Arroyo Toledo (Uruguay). *Revista de Biología Tropical*, 43, 643-655.
- ASPRILLA, S., MOSQUERA, Z. & RIVAS, M. 2006. Macroinvertebrados acuáticos como indicadores de calidad ecológica del agua en la parte media del río Cabí (Quibdó – Chocó). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 18(18), 43-50.

- BAPTISTA, D.F., BUSS, D.F., EGLER, M., GIOVANELLI, A., SILVEIRA, M.P. & NESSIMIAN, J.L. 2007. A multimetric index based on benthic macroinvertebrates for evaluation of Atlantic Forest streams at Rio de Janeiro State, Brazil. *Hydrobiologia*, 575, 83-94.
- BARBOUR, M.T., GERRITSEN, J., ZINDER, B.D. & STRIBLING, J.B. 1999. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers, Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. Second Edition. EPA 841 – B4199 002. U. S. Environmental Protection Agency. Office of Water. Washington, D.C.
- BEKETOV, M.A., KEFFORD, B.J., SCHÄFER, R.B. & LIESS, M. 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (27), 11039-11043.
- BEKETOV, M.A., FOIT, K., SCHÄFER, R.B., SCHRIEVER, C.A., SACCHI, A., CAPRI, E., BIGGS, J., WELLS, C. & LIESS, M. 2009. SPEAR indicates pesticide effects in streams—comparative use of species-and family-level biomonitoring data. *Environmental pollution*, 157(6), 1841-1848.
- BELENGUER, V., MARTINEZ-CAPEL, F., MASIÁ, A. & PICÓ, Y. 2014. Patterns of presence and concentration of pesticides in fish and waters of the Júcar River (Eastern Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 265, 271– 279.
- BERENZEN, N., KUMKE, T., SCHULZ, H.K. & SCHULZ, R. 2005. Macroinvertebrate community structure in agricultural streams, impact of runoff-related pesticide contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(1), 37-46.
<http://10.1016/j.ecoenv.2003.10.010>.

- BORCARD, D., LEGENDRE, P., AVOIS-JACQUET, C. & TUOMISTO, H. 2004. Dissecting the spatial structures of ecological data at all scales. *Ecology* 85(7), 1826-1832. <http://10.1890/03-3111>.
- BOYERO, L., RAMÍREZ, A., DUDGEON, D., & PEARSON, R.G. 2009. Are tropical streams really different?. *Journal of the North American Benthological Society*, 28(2), 397-403.
- BRANNSTROM, C. 2009. South America's neoliberal agricultural frontiers, places of environmental sacrifice or conservation opportunity. *AMBIO, A Journal of the Human Environment*, 38(3), 141-150.
- CAICEDO, O. & PALACIO, J. 1998. Los macroinvertebrados bentónicos y la contaminación orgánica en la quebrada La Mosca (Guanare, Antioquia-Colombia). *Actualidades Biológicas*, 20(69), 61-73.
- CARAZO-ROJAS, E., PÉREZ-ROJAS, G., PÉREZ-VILLANUEVA, M., CHINCHILLA-SOTO, C., CHIN-PAMPILLO, J.S., AGUILAR-MORA, P., ALPIZAR-MARÍN, M., MASÍS-MORA, M., RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. & VRYZAS, Z. 2018. Pesticide monitoring and ecotoxicological risk assessment in surface water bodies and sediments of a tropical agro-ecosystem. *Environmental pollution*, 241, 800-809.
- CARRANZA, R. 2007. Diagnóstico del uso de plaguicidas en Cerro Punta, Provincia de Chiriquí, República de Panamá. Citado el 20/XI/2018. Enlace, <https://burica.wordpress.com/2007/08/23/diagnostico-del-uso-de-plaguicidas-en-cerro-punta-provincia-de-chiriqui-republica-de-panama/>

- CARRIQUIRIBORDE, P., MIRABELLA, P., WAICHMAN, A., SOLOMON, K., VAN DEN BRINK, P.J. & MAUND, S. 2014. Aquatic risk assessment of pesticides in Latin America. *Integrated environmental assessment and management*, 10(4), 539-542.
- CASTILLO, L., PINNOCK, M. & MARTÍNEZ, E. 2000. Evaluation of a Battery of Toxicity Tests for Use in the Assessment of Water Quality in a Costa Rican Laboratory. *Environmental Toxicology*, 15(4), 312-321
- CASTILLO, L., DE LA CRUZ, E. & RUEPERT, C. 1997. Ecotoxicology and pesticides In tropical aquatic ecosystems of Central America. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(1),41-51.
- CLEMENTS, W., CARLISLE, D., COURTNEY, L. & HARRAHY, E. 2002. Integrating observational and experimental approaches to demonstrate causation in stream biomonitoring studies. *Environmental Toxicology and Chemistry, An International Journal*, 21(6),1138-1146.
- CHAPMAN, P.M., HO, K.T., MUNNS JR, W.R., SOLOMON, K. & WEINSTEIN, M.P. 2002. Issues in sediment toxicity and ecological risk assessment. *Marine pollution bulletin*, 44(4), 271-278.
- CONNELL, D.W. 1988. Bioaccumulation behavior of persistent organic chemicals with aquatic organisms. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 102, 117–154.
- CONNOLLY, N.M., CROSSLAND, M.R. & PEARSON, R.G. 2004. Effect of low dissolved oxygen on survival, emergence, and drift of tropical stream

macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*, 23(2), 251-270.

CONNOLLY, N.M., PEARSON, R.G. 2007. The effect of fine sedimentation on tropical stream macroinvertebrate assemblages, a comparison using flow-through artificial stream channels and recirculating mesocosms. *Hydrobiologia*, 592(1), 423-438. <http://10.1007/s10750-007-0774-7>.

CONNOLLY, N.M., PEARSON, R.G. 2013. Nutrient enrichment of a heterotrophic stream alters leaf litter nutritional quality and shredder physiological condition via the microbial pathway. *Hydrobiologia*, 718(1), 85-92. <http://10.1007/s10750-013-1605-7>.

CORNEJO, A., LÓPEZ-LÓPEZ, E., RUIZ-PICOS, R.A., SEDEÑO-DÍAZ, J.E., ARMITAGE, B., AREFINA, T., NIETO, C., TUÑÓN, A., MOLINAR, M., ÁBREGO, T., PÉREZ, E., TUÑÓN, A.R., MAGUÉ, J., RODRÍGUEZ, A., PINEDA, J., CUBILLA, J. & AVILA QUINTERO, I.M. 2017. Diagnóstico de la condición ambiental de los afluentes superficiales de Panamá. 326 p. Disponible en, https://www.researchgate.net/profile/Aydee_Cornejo/publication/322448088_Diagnostico_de_la_Condicion_Ambiental_de_los_Afluentes_Superficiales_de_Panama/links/5a594917a6fdcc3bfb5ab6c4/Diagnostico-de-la-Condicion-Ambiental-de-los-Afluentes-Superficiales-de-Panama.pdf

DE CASTRO-CATALÀ, N., KUZMANOVIC, M., ROIG, N., SIERRA, J., GINEBREDÀ, A., BARCELÓ, D., PÉREZ, S., PETROVIC, M., PICÓ, Y., SCHUHMACHER, M. & MUÑOZ, I. 2016. Ecotoxicity of sediments in rivers,

- Invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. *Science of the total environment*, 540, 297-306.
- DE ROMEDI, A., NASSETTA, M.M. & CÓRPORA, R.M. 2011. Validación de la metodología para análisis de residuos de plaguicidas en agua para consumo humano. *Revista de Salud Pública*, 15(2), 27-35.
- DEKNOCK, A., DE TROYER, N., HOUBRAKEN, M., DOMINGUEZ-GRANDA, L., NOLIVOS, I., VAN ECHELPOEL, W., EURIE FORIO, M.A., SPANOGHE, P. & GOETHALS, P. 2019. Distribution of agricultural pesticides in the freshwater environment of the Guayas river basin (Ecuador). *Science of the Total Environment*, 646, 996-1008.
- DOMÍNGUEZ, E. & FERNÁNDEZ, H.R. 1998. Calidad de los ríos de la Cuenca del Salí (Tucumán, Argentina) medida por un índice biótico. *Serie Conservación de la Naturaleza*. 12, 1-40.
- EGLER, M., BUSS, D.F., MOREIRA, J.C. & BAPTISTA, D.F. 2012. Influence of agricultural land-use and pesticides on benthic macroinvertebrate assemblages in an agricultural river basin in southeast Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 72(3), 437-443.
- EMPRESA DE TRANSMISIÓN ELÉCTRICA (ETESA S.A.). 2008. Resumen Técnico Análisis Regional de Crecidas Máximas de Panamá, Periodo 1971-2006. p. 108.
- ESCOBAR, A. 1989. Estudio de las comunidades macro bentónicas en el río Manzanares y sus principales afluentes y su relación con la calidad de agua. *Actualidades Biológicas*, 18(65), 45-60.

- FENOGLIO S., BADINO, G. & BONA, F. 2002. Benthic macroinvertebrate communities as indicators of river environment quality, an experience in Nicaragua. *Revista de Biología Tropical* 50(3-4), 1125-1131.
- FERNÁNDEZ, H.R., DOMÍNGUEZ, E., ROMERO, F. & CUEZZO, G. 2006. La calidad del agua y la bioindicación en los ríos de montaña del Noroeste Argentino. *Serie Conservación de la Naturaleza*, 16, 42 pp.
- FIGUEROA, R., VALDOVINOS, C., ARAYA, E. & PARRA, O. 2003. Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de calidad de agua del sur de Chile. *Revista Chilena Historia Natatural*, 76(2), 275-285.
- FOSSATI, O., WASSON, J., HÉRY, C., SALINAS, G. & MARÍN, R. 2001. Impact of sediment releases on water chemistry and macroinvertebrate communities in clear water Andean streams (Bolivia). *Archiv für Hydrobiologie*, 151(1), 33-50.
- GESSNER, M.O., CHAUVET, E. 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*, 12(2), 498-510.
[http://10.1890/1051-0761\(2002\)012%5B0498:ACFULB%5D2.0.CO;2](http://10.1890/1051-0761(2002)012%5B0498:ACFULB%5D2.0.CO;2).
- GIBBS, H.K., RUESCH, A.S., ACHARD, F., CLAYTON, M.K., HOLMGREN, P., RAMANKUTTY, N. & FOLEY, J.A. 2010. Tropical forests were the primary sources of new agricultural land in the 1980s and 1990s. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(38), 16732-16737.
<http://10.1073/pnas.0910275107>.
- GRAEBER, D., BOËCHAT, I.G., ENCINA-MONTOYA, F., ESSE, C., GELBRECHT, J., GOYENOLA, G., ... & NIMPTSCH, J. 2015. Global effects of agriculture on

- fluvial dissolved organic matter. *Scientific reports*, 5, 16328.
<http://10.1038/srep16328>.
- GUERRERO, M. & LLOYD, B. 1992. Using biotic indicators to assess water quality in Peru. *Waterlines* 10, 5-8.
- GUINARD, J., RÍOS, T. & J.A. BERNAL-VEGA. 2013. Diversidad, abundancia de macroinvertebrados acuáticos y calidad del agua de la cuenca alta y baja del río Gariché, provincia de Chiriquí, Panamá. *Gestión y Ambiente* 16(2), 61-70.
- GUTIÉRREZ, J., RISS, H.W. & OSPINA-TORRES, R. 2004. Bioindicación de la calidad del agua con macroinvertebrados acuáticos en la sabana de Bogotá, utilizando redes neuronales artificiales. *Caldasia* 26, 151-160.
- GUTIÉRREZ, J., ZAMORA GONZÁLEZ, H. & ANDRADE-SOSSA, C.E. 2014. Efecto de la actividad antrópica sobre la composición y diversidad de macroinvertebrados acuáticos en el río Cofre (sistema lótico andino colombiano). *Revista Biodiversidad Neotropical* 4(2), 113-123.
- GUTIÉRREZ J.D., RISS, W. & OSPINA, R. 2004. Bioindicación de la calidad del agua en la Sabana de Bogotá - Colombia, mediante la utilización de la lógica difusa neuroadaptativa como herramienta. *Caldasia* 28(1), 45-56.
- HAWKES, H.A. 1998. Origin and development of the Biological Monitoring Working Party score system. *Water Research*, 32, 964-968.
- HEARTSILL-SCALLEY, T., AIDE, T.M. 2003. Riparian vegetation and stream condition in a tropical agriculture-secondary forest mosaic. *Ecological Application*, 13, 225-234. [http://10.1890/1051-0761\(2003\)013%5B0225,rvasci%5D2.0.co,2](http://10.1890/1051-0761(2003)013%5B0225,rvasci%5D2.0.co,2).

- HELLAWELL, J.M. 1986. Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management, pp. 546. Elsevier Applied Science, London.
- HERBAS, R., RIVERO, F. & GONZÁLEZ, A. 2006. Indicadores biológicos de la calidad del agua. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia. Online, <https://goo.gl/K4oTGB>.
- HOLVOET, K.M., SEUNTJENS, P. & VANROLLEGHEM, P.A. 2007. Monitoring and modeling pesticide fate in surface waters at the catchment scale. *Ecological Modelling*, 209(1), 53-64.
- HUNT, L., BONETTO, C., MARROCHI, N., SCALISE, A., FANELLI, S., LIESS, M., ... & RESH, V. H. 2017. Species at Risk (SPEAR) index indicates effects of insecticides on stream invertebrate communities in soy production regions of the Argentine Pampas. *Science of the Total Environment*, 580, 699-709. <http://10.1016/j.scitotenv.2016.12.016>.
- IANNACONE, J.A., SALAZAR, N., y ALVARIÑO, L. 2003. Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera, Chironomidae) para evaluar cadmio, mercurio y plomo. *Ecología Aplicada*, 2 (1), 103-110.
- IANNACONE, J., ALVARIÑO, L. & DALE, W. 1998. Pruebas ecotoxicológicas como una herramienta para la evaluación del impacto ambiental. *Boletín de Lima* (Perú), 113, 53-68.
- IWATA, T., NAKANO, S., INOUE, M. 2003a. Impacts of past riparian deforestation on stream communities in a tropical rain forest in Borneo. *Ecological Application*, 13, 461-473. [http://10.1890/1051-0761\(2003\)013%5B0461,IOPRDO%5D2.0.CO;2](http://10.1890/1051-0761(2003)013%5B0461,IOPRDO%5D2.0.CO;2).

- JACOBSEN, D. 1998. The Effect of Organic Pollution on the Macroinvertebrate Fauna of Ecuadorian Highland Streams. *Archives für Hydrobiologie*, 143(2), 179-195.
- JESÚS, F., HLADKI, R., GÉREZ, N., BESIL, N., NIELL, S., FERNÁNDEZ, G., HEINZEN, H. & CESIO, M.V. 2018. Miniaturized QuEChERS based methodology for multiresidue determination of pesticides in odonate nymphs as ecosystem biomonitors. *Talanta*, 178, 410-418.
- JUNQUEIRA, V. M. & CAMPOS, S.C.M. 1998. Adaptation of the BMWP method for water quality evaluation to Rio das Velhas watershed (Minas Gerais, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 10(2), 125-135.
- KATAGI, T. 2010. Bioconcentration, bioaccumulation, and metabolism of pesticides in aquatic organisms. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 1-132). Springer, New York, NY.
- LAABS, V., AMELUNG, W., PINTO, A.A., WANTZEN, M., DA SILVA, C.J., & ZECH, W. 2002. Pesticides in surface water, sediment, and rainfall of the northeastern Pantanal basin, Brazil. *Journal of Environmental Quality*, 31(5), 1636-1648.
- LAM, P.K.S. 1996. Sublethal effects of cadmium on the energetics of a tropical freshwater snail, *Brotia hainanensis* (Brot, 1872). *Environmental Toxicology and Water Quality, An International Journal*, 11(4), 345-349.
- LAURANCE, W.F., SAYER, J., & CASSMAN, K. G. 2014. Agricultural expansion and its impacts on tropical nature. *Trends in Ecology & Evolution*, 29(2), 107-116. <http://10.1016/j.tree.2013.12.001>.
- LEK, S. & GUEGAN, J.F. 2000. Artificial neuronal networks, application to ecology and

evolution. *Berlin, Springer*. 262 pp.

LEONARD, A.W., HYNE, R.V., LIM, R.P., PABLO, F. & VAN DEN BRINK, P.J.

2000. Riverine endosulfan concentrations in the Namoi River, Australia, Link to cotton field runoff and macroinvertebrate population densities. *Environmental toxicology and Chemistry*, 19(6), 1540-1551.

LI, L., ZHENG, B. & LIU, L. 2010. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems, definitions, approaches and trends. *Procedia Environmental Sciences*, 2, 1510-1524.

LIESS, M., & OHE, P. C. V. D. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(4), 954-965. <http://10.1897/03-652.1>.

LIESS, M., SCHÄFER, R.B. & SCHRIEVER, C.A. 2008. The footprint of pesticide stress in communities—species traits reveal community effects of toxicants. *Science of the total environment*, 406(3), 484-490. <http://10.1016/j.scitotenv.2008.05.054>.

LIESS, M., & VON DER OHE, P.C. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology Chemistry*, 24, 954-965.

LORION, C.M. & KENNEDY, B.P. 2009a. Relationships between deforestation, riparian forest buffers and benthic macroinvertebrates in neotropical headwater streams. *FreshWater Biology*, 54, 165-180. <http://10.1111/j.1365-2427.2008.02092.x>.

- LORION, C.M. & KENNEDY, B.P. 2009b. Relationships between deforestation, riparian forest buffers and benthic macroinvertebrates in neotropical headwater streams. *FreshWater Biology*, 54, 165-180.
- MACHADO, T. & ROLDÁN, G. 1981. Estudio de las características fisicoquímicas y biológicas del río Anorí y sus principales afluentes. *Actualidades Biológicas*, 10(35), 3-19.
- MAGBANUA, F.S., TOWNSEND, C.R., HAGEMAN, K.J., PIGGOTT, J.J. & MATTHAEI, C.D. 2016. Individual and combined effects of fine sediment and glyphosate herbicide on invertebrate drift and insect emergence, a stream mesocosm experiment. *Freshwater Science*, 35, 139-151. <http://10.1086/684363>.
- MATTHAEI, C.D., PIGGOTT, J.J. & TOWNSEND, C.R. 2010. Multiple stressors in agricultural streams: interactions among sediment addition, nutrient enrichment and water abstraction. *Journal of Applied Ecology*, 47(3), 639-649. <http://10.1111/j.1365-2664.2010.01809.x>.
- MEKEBRI, A., CRANE, D.B., BLONDINA, G.J., OROS, D.R. & ROCCA, J.L. 2008. Extraction and analysis methods for the determination of pyrethroid insecticides in surface water, sediments and biological tissues at environmentally relevant concentrations. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 80(5), 455-460.
- MENJIVAR, R.A. 2010. Guía ilustrada para el estudio ecológico y taxonómico de los insectos acuáticos del Orden Diptera. In, Springer M, Sermeño Chicas JM, editors. Formulación de una guía metodológica estandarizada para determinar la calidad ambiental de las aguas de los ríos de El Salvador, utilizando insectos

acuáticos. Editorial Universitaria UES, San Salvador, El Salvador.

MINISTERIO DE DESARROLLO AGROPECUARIO (MIDA). 2016. Enfoque integral de contaminantes Químicos y Biomonitorio en la cuenca alta del río Chirquí Viejo, Resultados Preliminares, 54 p.

MIYAMOTO, J., MIKAMI, N., & TAKIMOTO, Y. 1990. The fate of pesticides in aquatic ecosystems. In, *Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology. Environmental Fate of Pesticides*. Hutson DH, Roberts TR (eds) John Wiley & Sons, Ltd., New York, 7, Chapter 6, pp 123–147.

OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., FRIENDLY, M., KINDT, R., LEGENDRE, P., MCGLINN, D., ... & STEVENS, M. H. H. 2018. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-2. 2018.

ORMEROD, S.J., DOBSON, M., HILDREW, A.G. & TOWNSEND, C.R. 2010. Multiple stressors in freshwater ecosystems. *FreshWater Biology*, 55, 1-4. <http://10.1111/j.1365-2427.2009.02395.x>.

PACHECO-CHAVES, B. 2010. Guía ilustrada para el estudio ecológico y taxonómico de los insectos acuáticos del Orden Hemiptera en El Salvador. In, Springer M, Sermeño Chicas JM, editors. *Formulación de una guía metodológica estandarizada para determinar la calidad ambiental de las aguas de los ríos de El Salvador, utilizando insectos acuáticos*. Editorial Universitaria UES, San Salvador, El Salvador, 2010.

PEARSON, R.G. & CONNOLLY, N.M. 2000. Nutrient enhancement, food quality and community dynamics in a tropical rainforest stream. *FreshWater Biology*, 43, 31-42. <http://10.1046/j.1365-2427.2000.00504.x>.

- PETERSON, D.R. 1994. Calculating the aquatic toxicity of hydrocarbon mixtures. *Chemosphere*, 29 (12), 2493-2506.
- PHALAN, B., BERTZKY, M., BUTCHART, S. H., DONALD, P. F., SCHARLEMANN, J. P., STATTERSFIELD, A.J., & BALMFORD, A. 2013. Crop expansion and conservation priorities in tropical countries. *PloS One*, 8(1), e51759. <http://10.1371/journal.pone.0051759>.
- PIGGOTT, J.J., LANGE, K., TOWNSEND, C.R. & MATTHAEI, C.D. 2012. Multiple stressors in agricultural streams, a mesocosm study of interactions among raised water temperature, sediment addition and nutrient enrichment. *PLoS. ONE*, 7, e49873. <http://10.1371/journal.pone.0049873>.
- POSADA, A., ROLDÁN, G. & RAMÍREZ, J.J. 2000. Caracterización fisicoquímica y biológica de la calidad de aguas de la cuenca de la quebrada Piedras Blancas, Antioquia, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 48 (1), 59-70.
- QUINN, G.P., KEOUGH, M.J. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge, Cambridge University Press. 10.1017/CBO9780511806384.
- RASMUSSEN, J. J., REILER, E. M., CARAZO, E., MATARRITA, J., MUÑOZ, A. & CEDERGREEN, N. 2016. Influence of rice field agrochemicals on the ecological status of a tropical stream. *Science of the Total Environment*, 542, 12-21. <http://10.1016/j.scitotenv.2015.10.062>.
- REEMTSMA, T., ALDER, L. & BANASIAK, U. 2013. A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater

- using direct injection liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1271(1), 95-104. <http://10.1016/j.chroma.2012.11.023>.
- RICHARDS, P.D., MYERS, R.J., SWINTON, S.M. & WALKER, R.T. 2012. Exchange rates, soybean supply response, and deforestation in South America. *Global Environ Change*, 22,454–462.
- RICE, E.W., BAIRD, R.B., EATON, A.D. & CLESCERI, L.S. 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- RICO, C., PAREDES, M. & FERNANDEZ, N. 2009. Modelación de la estructura jerárquica de macroinvertebrados bentónicos a través de redes neuronales Artificiales. *Acta Biología Colombiana*, 14(3), 71-96.
- RISS, W., OSPINA, R. & GUTIÉRREZ, J.D. 2002. Establecimiento de valores de bioindicación para los macroinvertebrados acuáticos de la Sabana de Bogotá. *Caldasia*, 24, 135-156.
- RIZO-PATRÓN, F., KUMAR A., MCCOY, C.M., SPRINGER, M. & TRAMA, F.A. 2013. Macroinvertebrate communities as bioindicators of water quality in conventional and organic irrigated rice fields in Guanacaste, Costa Rica. *Ecological Indicators*, 29, 68-78.
- ROLDÁN, G., BUILES, J., TRUJILLO, C.M. & SUÁREZ, A. 1973. Efectos de la contaminación industrial y doméstica sobre la fauna béntica del río Medellín. *Actualidades Biológicas*, 2(4), 54-64.
- ROLDÁN, G. 1999. Los macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad del agua. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y*

Naturales, 23(88), 375-387.

ROLDÁN, G. 2003. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia. Uso del método

BMWPColombia. Universidad de Antioquia, Medellín, 170 p.

ROSALES, L.E. & MATEO, S.S. 2013. Uso de Macroinvertebrados bentónicos como

bioindicadores de calidad del agua del río Palacagüina, Norte de Nicaragua.

Revista Científica de FAREM-Estelí, (8), 66-75.

RUIZ-PICOS, R.A., KOHLMANN, B., SEDEÑO-DÍAZ, J.E. & LÓPEZ-LÓPEZ, E.

2017. Assessing ecological impairments in Neotropical rivers of Mexico,

calibration and validation of the Biomonitoring Working Party Index.

International Journal of Environmental Science and Technology, 4, 1835-1852.

SARPOLA M.J., PAASCH, R.K., MORTENSEN, E.N., DIETTERICH, T.G., LYTLE

D.A., MOLDENKE, A.R. & SHAPIRO, L.G. 2009. An aquatic insect imaging

system to automate insect classification. *Transactions of the ASABE*, 51(6), 0001-

2351.

SCHÄFER, R. B., GERNER, N., KEFFORD, B. J., RASMUSSEN, J. J., BEKETOV, M.

A., DE ZWART, D., ... & VON DER OHE, P. C. 2013. How to characterize

chemical exposure to predict ecologic effects on aquatic communities?.

Environmental science & technology, 47(14), 7996-8004.

SCHÄFER, R. B., PETTIGROVE, V., ROSE, G., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A.,

VON DER OHE, P. C., ... & KEFFORD, B. J. 2011. Effects of pesticides

monitored with three sampling methods in 24 sites on macroinvertebrates and

microorganisms. *Environmental science & technology*, 45(4), 1665-1672.

<http://10.1021/es103227q>.

- SCHÄFER, R. B., VON DER OHE, P. C., RASMUSSEN, J., KEFFORD, B. J., BEKETOV, M. A., SCHULZ, R., & LIESS, M. 2012. Thresholds for the effects of pesticides on invertebrate communities and leaf breakdown in stream ecosystems. *Environmental science & technology*, 46(9), 5134-5142.
- SEGNINI, S. 2003. El Uso De Los Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de la condición ecológica de los cuerpos de agua corriente. *Ecotropicos*, 16, 45-63.
- SILVA, F. L., D. C. MOREIRA, G. L. BOCHINI & S. S. RUIZ. 2007. Desempenho de dois índices biológicos na avaliação da qualidade das águas do Córrego Vargem Limpa, Bauru, SP, através de macroinvertebrados bentônicos. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2(3), 231-234.
- SPRINGER, M., RAMÍREZ, A., & HANSON, P. 2010. Macroinvertebrados de agua dulce de Costa Rica I. *Revista de Biología Tropical*, 58(4), 151-198.
<http://10.15517/rbt.v58i4>
- STEIN, H., SPRINGER, M., & KOHLMANN, B. 2008. Comparison of two sampling methods for biomonitoring using aquatic macroinvertebrates in the Dos Novillos River, Costa Rica. *Ecological Engineering*, 34(4), 267-275.
<http://10.1016/j.ecoleng.2007.06.010>.
- STÖCKELHUBER, M., MÜLLER, C., VETTER, F., MINGO, V., LÖTTERS, S., WAGNER, N. & BRACHER, F. 2017. Determination of Pesticides Adsorbed on Arthropods and Gastropods by a Micro-QuEChERS Approach and GC–MS/MS. *Chromatographia*, 80(5), 825-829.

- SUGA, C.M. & TANAKA, M.O. 2012. Influence of a forest remnant on macroinvertebrate communities in a degraded tropical stream. *Hydrobiologia*, 703, 203-213. <http://10.1007/s10750-012-1360-1>.
- TERNEUS, E., RACINES, M. J., & HERNÁNDEZ, K. 2012. Evaluación Ecológica del Río Lliquino a Través de Macroinvertebrados Acuáticos, Pastaza–Ecuador. *Revista de Ciencias*, 16, 31-45.
- TILMAN, D., FARGIONE, J., WOLFF, B., D'ANTONIO, C., DOBSON, A., HOWARTH, R., ... & SWACKHAMER, D. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292(5515), 281-284. <http://10.1126/science.1057544>.
- TOWNSEND, C.R., UHLMANN, S.S., & MATTHAEI, C.D. 2008. Individual and combined responses of stream ecosystems to multiple stressors. *Journal of Applied Ecology*, 45(6), 1810-1819. <http://10.1111/j.1365-2664.2008.01548.x>.
- VEGA, M.J. 2012. Transformaciones y conflictos ambientales relacionados al uso del recurso hídrico en la Cuenca Hidrográfica del Río Chiriquí Viejo, Provincia de Chiriquí. *Humanitates*, 1, 94-98.
- VON SCHILLER, D., ACUÑA, V., ARISTI, I., ARROITA, M., BASAGUREN, A., BELLIN, A., ... & LARRAÑAGA, A. 2017. River ecosystem processes: A synthesis of approaches, criteria of use and sensitivity to environmental stressors. *Science of the Total Environment*, 596, 465-480.. <http://10.1016/j.scitotenv.2017.04.081>.
- WICKHAM, H. 2009. ggplot2, elegant graphics for data analysis, Springer Science & Business Media.
- WOOD, S. 2006. Generalized additive models, an introduction with R, Chapman and Hall/CRC.
- WOOD, S. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, 73, 3-36. <http://10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x>.

- WOODWARD G, GESSNER MO, GILLER PS, GULLIS V, HLADYZ H, LECERF A, ET AL. Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science* 2012, 336, 1438-1440. <http://10.1126/science.1219534>.
- YULE, C. M., BOYERO, L., & MARCHANT, R. 2010. Effects of sediment pollution on food webs in a tropical river (Borneo, Indonesia). *Marine and Freshwater Research*, 61(2), 204-213. <http://10.1071/MF09065>.
- ZAMORA-MUÑOZ, C., SÁINZ-CANTERO, C. E., SÁNCHEZ-ORTEGA, A., & ALBA-TERCEDOR, J. 1995. Are biological indices BMPW'and ASPT'and their significance regarding water quality seasonally dependent? Factors explaining their variations. *Water Research*, 29(1), 285-290. [http://10.1016/0043-1354\(94\)E0125-P](http://10.1016/0043-1354(94)E0125-P).
- ZÚÑIGA DE CARDOSO, M. D. C., ROJAS DE HERNÁNDEZ, A. M., & CAICEDO, G. 1993. Indicadores ambientales de calidad de agua en la cuenca del río Cauca. *Revista AINSA*, 13(2), 17-28.
- ZUUR, A., IENO, E. N., WALKER, N., SAVELIEV, A. A., & SMITH, G. M. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer Science & Business Media.

VIII. ANEXOS

Cuadro 1. Coordenadas de los sitios de muestreo, fecha de muestreo y número de muestras recolectadas en cada sitio.

Código de sitio	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	S1	S2	S3
Coordenadas	322984	324664	324744	325390	326658	327912	324436	323932	326313	326147	325782	325009	324811	322429	326978	331019
	982951	980401	982774	980398	981018	980842	978457	978421	980153	980023	979555	979941	980787	983458	980740	977989
Altitud (msnm)	2323	2075	1820	2018	1843	1899	1510	1778	1708	1896	1887	1888	1846	2201	1890	2368
Obtención de datos físicos y químicos (Número de muestras por año)	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2017-2018	2017-2018	2017-2018
	(4-10-3)	(4-10-2)	(4-10-3)	(4-10-2)	(4-10-3)	(4-10-3)	(4-10-3)	(4-9-3)	(4-9-3)	(4-10-3)	(3-10-3)	(4-10-3)	(4-10-2)	(1-1)	(1-1)	(1-1)
	17	16	17	16	17	17	17	16	16	17	16	17	16	2	2	2
Obtención de datos de plaguicidas y macroinvertebrados (Número de muestras por año)	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2015-2016-2017	2017-2018	2017-2018	2017-2018
	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-6)	(4-10-5)	(1-1)	(1-1)	(1-1)
	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	19	2	2	2

Cuadro 2. Protocolo de evaluación rápida del hábitat desarrollado modificado de Barbour et al (1999) para flujos de alto gradiente.

PROTOCOLO DE CARACTERIZACIÓN DE HÁBITATS Gradiente Alto (Barbour et al., 1999)																					
1. DATOS GENERALES										2. NÚMERO DE CONTROL:											
Nombre del río:										ID Estación:											
Cuenca:					Orden del río:					Latitud		Longitud									
Provincia:					Distrito:																
Corregimiento:					Localidad:																
Proyecto:										Altura:											
Fechas del Muestreo:					Hora:		AM		PM		Llenado por:										
3. CARACTERIZACIÓN DEL HÁBITAT																					
Parámetro	Óptimo					Subóptimo					Marginal					Pobre					
3.1. Heterogeneidad y estabilidad del sustratos disponibles	Más de 70 % del sustrato es estable y puede ser colonizado por la epifauna. El tramo presenta una mezcla de piedras, troncos sumergidos o superficiales o cualquier otro sustrato estable.					Entre 40 y 70% del sustrato es estable. Además, existe un sustrato nuevo aun sin condiciones para ser habitado					Entre 20 y 40 % del sustrato es estable. Frecuentemente perturbado o removido					Menos de un 20 % del sustrato es estable. Ausencia de hábitats adecuados.					
Puntos: _____	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3.2. Empotramiento del sustrato	Entre 0 y 25 % de la superficie de rocas, piedras y grava está rodeada de sedimento fino.					Entre 25 y 50 % de la superficie de rocas, piedras y grava rodeadas de sedimento fino					Entre 50 y 75 % de la superficie de rocas, piedras y grava rodeadas de sedimento fino					Más de un 75 % de la superficie de rocas, piedras y grava rodeadas de sedimento fino					
Puntos: _____	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3.3. Relación profundidad y velocidad	El tramo del río presenta las cuatro combinaciones siguientes: a) lento/profundo, b) lento/bajo, c) rápido/profundo, d) rápido/bajo					Sólo tres combinaciones. La ausencia de rápido/bajo determina el menor puntaje					Sólo dos combinaciones. La ausencia de rápido/bajo y lento/bajo determina el menor puntaje					Una sola combinación presente. Usualmente lento/profundo					
Puntos: _____	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
3.4. Deposición de sedimentos	Poca presencia de islas o barreras, menos del 20 % del fondo afectado por deposición de sedimentos.					Aumento de la formación de barreras, principalmente de canto rodado, arena o sedimento fino. 20-50 % del fondo afectado, poca deposición en pozas.					Deposición moderada de canto rodado, grava y sedimento fino en barras viejas y nuevas. Del 50-80 % del fondo afectado.					Depósitos grandes de material fino, incremento del desarrollo de barras, más del 80 % del fondo afectado.					
Puntos: _____	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

3.5. Estado del flujo del cauce	El nivel del agua alcanza la base de las márgenes y la exposición del sustrato de fondo es mínima.	El agua sólo cubre el 75 % del cauce o menos del 25 % del sustrato de fondo queda expuesto.	El nivel del agua cubre entre el 25 y 75 % del cauce y queda expuesta la mayor parte del sustrato de los rápidos.	Muy poca agua sobre el cauce y la mayoría como pozos.
Puntos: _____	20 19 18 17 16	15 14 13 12 11	10 9 8 7 6	5 4 3 2 1 0
3.6. Alteración del cauce	Ausencia o mínima presencia de canalización o dragado. Corriente con cauce normal.	Cierta canalización presente por puentes. Evidencia de canalización actual o pasada.	Canalización extensiva. Diques u otras estructuras presentes en ambas márgenes. Entre el 40 y 80% del trecho del río canalizado y alterado.	Márgenes protegidas con gabiones o cemento. Más del 80 % del trecho del río canalizada y alterado. Los hábitats internos eliminados <i>totalmente</i> .
Puntos: _____	20 19 18 17 16	15 14 13 12 11	10 9 8 7 6	5 4 3 2 1 0
3.7. Frecuencia de rápidos	Ocurrencia de rápidos relativamente frecuente. La relación distancia entre rápidos y el ancho del río es < 7.	Ocurrencia de rápidos poco frecuente. La relación distancia entre rápidos y ancho del río entre 7 y 15.	Ocurrencia ocasional de rápidos. La relación distancia entre rápidos y el ancho del río se encuentra entre 15 y 25.	Por lo general el agua corre sin interrupción o rápidos muy bajos. La relación distancia entre rápidos y el ancho del río es mayor a 25.
Puntos: _____	20 19 18 17 16	15 14 13 12 11	10 9 8 7 6	5 4 3 2 1 0
3.8. Estabilidad de la ribera	Orillas estables, mínima o ausente evidencia de erosión de las orillas, <5 % de las orillas afectadas.	Orilla moderadamente estable, pequeñas áreas de erosión, 5-30 % de la orilla esta erosionada.	Rivera del 30-60 % de erosión en las orillas, alto potencial de erosión de orillas durante descargas.	Orillas poco estables, entre 60-100 % están erosionadas.
Puntos: _____	M. Izquierdo 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
Puntos: _____	M. Derecho 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
3.9. Vegetación protectora de la ribera	Más del 90 % de las márgenes y la zona ribereña está cubierta por vegetación nativa incluyendo árboles, arbustos, macrofitas.	Entre el 70 y 90 % de las márgenes cubiertas por vegetación nativa. Vegetación algo abierta.	Entre el 50 y 70 % de las márgenes cubiertas por vegetación nativa. Vegetación abierta.	Menos del 50 % de las márgenes cubiertas por vegetación nativa.
Puntos: _____	M. Izquierdo 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
Puntos: _____	M. Derecho 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
3.10. Amplitud de la vegetación ribereña	Extensión de la vegetación ribereña mayor a 18 m y sin impacto antrópico.	Extensión de la vegetación ribereña entre 12 y 18 m y un mínimo impacto.	Extensión de la vegetación ribereña entre 6 y 12 m y un impacto evidente.	Extensión de la vegetación ribereña menor a 6 m. Poca o ninguna vegetación debido a un fuerte impacto.
Puntos: _____	M. Izquierdo 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
Puntos: _____	M. Derecho 10 9	8 7 6	5 4 3	2 1 0
Total: _____				

Cuadro 3. Categorías de calidad de hábitat según Barbour et al. (1999).

Categoría	Rango	Calificación
Óptimo	16–20	200–166
Sub-Óptimo	11–15	165–113
Marginal	6–10	112–60
Pobre	0–5	59–0

Cuadro 4. Variables de hábitat utilizadas para la caracterización del sitio según la metodología modificada de Barbour et al. (1999) (media \pm SE de 20 campañas de muestreo).

Código del sitio	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
Calidad del hábitats													
Epifaunal substrate	18.7 \pm 0.8	13.2 \pm 3.9	14.3 \pm 1.9	16.2 \pm 1.8	15.6 \pm 1.1	14.2 \pm 3.0	12.7 \pm 3.6	6.1 \pm 1.3	13.8 \pm 2.2	12.3 \pm 1.3	2.5 \pm 0.5	3.7 \pm 0.5	13.9 \pm 2.3
Embeddedness	18.9 \pm 0.9	15.7 \pm 2.8	15.6 \pm 1.4	17.0 \pm 1.3	10.8 \pm 1.9	15.6 \pm 1.6	14.2 \pm 2.5	5.7 \pm 1.3	13.2 \pm 3.0	10.7 \pm 3.8	5.5 \pm 0.9	6.1 \pm 0.9	14.4 \pm 2.6
Velocity/depth combinations	12.5 \pm 1.5	12.7 \pm 3.5	11.7 \pm 2.4	12.4 \pm 2.4	14.6 \pm 3.7	12.5 \pm 3.4	11.8 \pm 3.0	7.5 \pm 1.0	13.1 \pm 2.2	10.7 \pm 1.3	7.5 \pm 1.2	6.9 \pm 1.1	12.6 \pm 3.3
Sediment deposition	18.2 \pm 1.0	12.6 \pm 2.8	14.3 \pm 1.9	14.6 \pm 2.4	10.8 \pm 1.8	14.5 \pm 2.2	13.8 \pm 2.2	6.4 \pm 1.6	12.0 \pm 3.2	10.7 \pm 2.1	4.6 \pm 1.6	5.1 \pm 2.2	10.6 \pm 2.2
Channel flow status	17.7 \pm 1.6	14.4 \pm 3.0	12.6 \pm 2.8	15.8 \pm 2.8	13.8 \pm 2.5	15.3 \pm 2.6	14.9 \pm 2.2	11.2 \pm 0.5	14.1 \pm 2.7	16.2 \pm 1.0	8.1 \pm 1.0	9.4 \pm 2.2	14.7 \pm 2.3
Channel alteration	20.0 \pm 0	13.5 \pm 2.0	15.3 \pm 1.4	16.5 \pm 1.4	15.5 \pm 0.9	16.0 \pm 1.9	13.2 \pm 1.4	9.5 \pm 1.4	13.3 \pm 1.7	16.5 \pm 1.0	10.3 \pm 1.8	10.3 \pm 2.2	14.4 \pm 1.9
Frequency of riffles	18.2 \pm 1.3	16.7 \pm 1.0	16.0 \pm 0.4	16.7 \pm 2.0	16.6 \pm 1.2	15.7 \pm 1.2	15.8 \pm 0.8	11.4 \pm 0.6	16.2 \pm 1.3	16.4 \pm 0.9	11.4 \pm 0.5	11.3 \pm 0.4	16.1 \pm 0.9
Bank stability	18.4 \pm 0.8	4.0 \pm 2.4	16.0 \pm 0.7	16.3 \pm 1.5	9.5 \pm 1.2	12.0 \pm 3.7	11.8 \pm 3.9	3.0 \pm 1.0	10.2 \pm 3.0	7.1 \pm 0.9	3.1 \pm 0.9	2.9 \pm 1.2	13.0 \pm 3.5
Bank vegetative protection	20.0 \pm 0	1.1 \pm 0.7	8.2 \pm 1.2	15.4 \pm 0.6	5.4 \pm 0.9	7.4 \pm 0.9	5.6 \pm 0.8	1.2 \pm 0.4	10.9 \pm 1.5	3.8 \pm 0.4	2.0 \pm 0	2.0 \pm 0.0	12.1 \pm 1.4
Riparian vegetative zone width	20.0 \pm 0	0	3.9 \pm 0.8	15.7 \pm 0.6	1.4 \pm 0.5	2.8 \pm 0.4	2.2 \pm 0.4	0	6.1 \pm 1.7	2.8 \pm 0.4	0	1.0 \pm 0.0	7.2 \pm 0.7
Habitat quality	182.5 \pm 4.9	104.2 \pm 13.7	127.7 \pm 7.5	156.4 \pm 8.4	113.8 \pm 8.2	125.9 \pm 14.7	115.2 \pm 14.2	61.7 \pm 4.4	125.2 \pm 8.6	106.9 \pm 7.3	54.8 \pm 2.7	58.5 \pm 2.8	129.1 \pm 15.9
Sustrato inorgánico (%)													
Boulder (>256 mm)	52.0 \pm 12.4	22.0 \pm 7.9	19.0 \pm 9.7	18.0 \pm 8.3	15.0 \pm 5.1	29.0 \pm 10.2	23.5 \pm 5.6	16.3 \pm 3.2	33.3 \pm 7.7	19.5 \pm 6.1	3.8 \pm 4.3	3.5 \pm 4.2	21.3 \pm 11.0
Cobble (64-256 mm)	17.5 \pm 4.4	39.5 \pm 15.0	31.3 \pm 13.0	34.0 \pm 10.0	27.0 \pm 6.6	31.8 \pm 6.3	39.3 \pm 16.4	37.3 \pm 15.9	27.8 \pm 13.8	16.3 \pm 5.8	3.8 \pm 4.3	6.5 \pm 8.2	17.4 \pm 12.8
Gravel (2-64 mm)	17.3 \pm 9.4	26.3 \pm 15.4	28.3 \pm 13.3	34.5 \pm 11.0	34.5 \pm 7.6	23.0 \pm 7.2	22.5 \pm 18.5	9.3 \pm 5.2	26.5 \pm 15.7	25.0 \pm 7.6	31.8 \pm 14.8	10.5 \pm 3.3	18.2 \pm 11.7
Coarse sand (0.06-2mm)	7.3 \pm 3.8	7.3 \pm 2.6	13.5 \pm 13.0	6.8 \pm 2.5	13.5 \pm 9.0	8.0 \pm 3.0	6.0 \pm 3.5	15.3 \pm 7.0	6.5 \pm 2.7	20.8 \pm 5.7	38.0 \pm 7.0	56.0 \pm 10.5	22.4 \pm 13.6
Fine sand (0.004-0.006 mm)	5.5 \pm 2.8	4.3 \pm 2.9	5.4 \pm 2.4	5.3 \pm 1.1	6.3 \pm 2.2	5.5 \pm 2.2	5.0 \pm 0	1.0 \pm 4.3	4.8 \pm 2.0	12.3 \pm 4.7	10.5 \pm 4.8	14.0 \pm 5.4	14.7 \pm 9.9
Clay (<0.004 mm)	0.8 \pm 1.8	1.5 \pm 2.4	2.7 \pm 3.4	1.5 \pm 2.4	4.0 \pm 3.8	2.8 \pm 3.8	3.8 \pm 2.2	12.0 \pm 5.9	1.3 \pm 2.2	6.8 \pm 2.5	11.3 \pm 6.3	9.5 \pm 3.5	6.1 \pm 4.6
Materia orgánica (%)													
CPOM	72.0 \pm 5.2	36.5 \pm 4.9	63.5 \pm 4.9	67.5 \pm 4.4	63.0 \pm 4.7	55.5 \pm 8.3	49.0 \pm 10.2	28.0 \pm 4.1	42.0 \pm 6.2	37.5 \pm 4.4	30.5 \pm 5.1	33.0 \pm 4.5	46.8 \pm 16.7
FPOM	28.0 \pm 5.2	63.5 \pm 4.9	36.5 \pm 4.9	32.5 \pm 4.4	37.0 \pm 4.7	44.5 \pm 8.3	51.0 \pm 10.2	72.0 \pm 4.1	58.0 \pm 6.2	62.5 \pm 4.4	69.5 \pm 5.1	67.0 \pm 4.5	53.2 \pm 16.7

Cuadro 5. Variables fisicoquímicas para cada sitio (media \pm SE de 20 campañas de muestreo).

Código del sitio	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
pH	6.7 \pm 0.7	7.2 \pm 0.5	7.6 \pm 0.4	7.2 \pm 0.4	7.4 \pm 0.5	7.3 \pm 0.3	7.2 \pm 0.4	7.9 \pm 0.3	7.9 \pm 0.3	7.6 \pm 0.3	7.6 \pm 0.4	7.5 \pm 0.4	7.7 \pm 0.4
Temperatura (°C)	13.3 \pm 0.6	14.8 \pm 0.9	17.1 \pm 1.3	14.2 \pm 0.7	16.6 \pm 1.0	16.7 \pm 1.2	16.0 \pm 0.9	17.9 \pm 1.1	17.8 \pm 1.2	16.6 \pm 1.3	14.9 \pm 0.7	18.2 \pm 1.8	15.7 \pm 0.8
Conductividad (μ S cm ⁻¹)	8.3 \pm 8.0	13.9 \pm 15.0	27.8 \pm 26.1	10.9 \pm 12.2	29.8 \pm 28.3	25.8 \pm 25.5	31.9 \pm 35.5	88.7 \pm 80.5	42.0 \pm 40.4	59.8 \pm 56.5	58.8 \pm 51.8	111.4 \pm 105.6	65.0 \pm 62.2
Turbiedad (mg L ⁻¹)	2.3 \pm 2.5	6.3 \pm 13.6	10.3 \pm 11.6	7.3 \pm 17.5	11.5 \pm 16.6	13.2 \pm 19.5	12.6 \pm 14.9	82.7 \pm 151.4	15.2 \pm 10.2	12.2 \pm 11.1	15.2 \pm 30.9	76.3 \pm 144.1	15.3 \pm 12.1
Oxígeno disuelto (% saturación)	74.4 \pm 15.8	73.7 \pm 17.1	75.8 \pm 17.8	74.4 \pm 17.8	75.7 \pm 17.4	77.3 \pm 16.8	75.4 \pm 15.6	76.4 \pm 18.6	76.6 \pm 18.1	72.9 \pm 20.9	76.0 \pm 18.5	74.1 \pm 18.3	74.3 \pm 18.6
Sólidos Totales (mg L ⁻¹)	31.1 \pm 14.8	61.1 \pm 24.0	66.5 \pm 22.5	39.4 \pm 25.3	69.7 \pm 24.6	132.2 \pm 254.4	100.4 \pm 51.1	342.4 \pm 306.1	119.8 \pm 36.6	155.1 \pm 49.3	140.6 \pm 13.2	295.2 \pm 142.7	168.1 \pm 59.6
NO3 (mg L ⁻¹)	1.5 \pm 2.3	2.1 \pm 1.0	9.0 \pm 8.6	1.6 \pm 0.7	8.0 \pm 4.5	7.8 \pm 3.7	16.7 \pm 9.0	30.2 \pm 15.1	13.5 \pm 8.7	15.9 \pm 6.9	8.9 \pm 4.0	33.5 \pm 13.0	15.6 \pm 5.7
PO4 (mg L ⁻¹)	0.04 \pm 0.04	0.05 \pm 0.03	0.12 \pm 0.07	0.04 \pm 0.04	0.13 \pm 0.07	0.11 \pm 0.05	0.18 \pm 0.11	0.53 \pm 0.30	0.22 \pm 0.13	0.25 \pm 0.16	0.38 \pm 0.19	0.51 \pm 0.27	0.36 \pm 0.20

Cuadro 6. Concentración media (\pm SD) ($\mu\text{g L}^{-1}$) de plaguicidas en el agua y número total de plaguicidas detectados en cada sitio en 20 campañas de muestreo. CAS son los números de registro del servicio de resumen químico para plaguicida.

Tipo de plaguicida	CAS	Nombre del Pesticida	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
Insecticida	82657043	bifenthrin	n.d.	0.008 \pm 0.034	n.d.	0.025 \pm 0.084	n.d.	0.008 \pm 0.034	0.008 \pm 0.034	n.d.	0.018 \pm 0.078	0.008 \pm 0.034	n.d.	n.d.	0.008 \pm 0.034
Insecticida	1563662	carbofuran	n.d.	n.d.	0.008 \pm 0.034	n.d.	n.d.	0.018 \pm 0.055	n.d.	0.010 \pm 0.031	n.d.	n.d.	n.d.	0.009 \pm 0.040	n.d.
Insecticida	52315078	cypermethrin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.018 \pm 0.078	0.023 \pm 0.101	n.d.	0.023 \pm 0.101	0.019 \pm 0.085	0.019 \pm 0.083	0.018 \pm 0.080	n.d.
Insecticida	2921882	chlorpyrifos	0.010 \pm 0.042	0.010 \pm 0.045	0.683 \pm 2.965	0.010 \pm 0.042	0.785 \pm 3.403	0.026 \pm 0.065	0.056 \pm 0.117	0.630 \pm 2.345	0.055 \pm 0.115	0.010 \pm 0.045	0.577 \pm 2.335	0.034 \pm 0.085	0.567 \pm 2.399
Insecticida	72559	DDE-p.p'	0.027 \pm 0.085	0.018 \pm 0.080	0.044 \pm 0.072	0.025 \pm 0.079	0.029 \pm 0.095	0.013 \pm 0.056	0.023 \pm 0.077	0.015 \pm 0.067	0.016 \pm 0.069	0.016 \pm 0.069	0.028 \pm 0.087	0.016 \pm 0.069	0.026 \pm 0.079
Insecticida	333415	diazinon	0.045 \pm 0.164	n.d.	0.052 \pm 0.145	0.108 \pm 0.368	0.056 \pm 0.155	0.024 \pm 0.075	0.059 \pm 0.159	0.052 \pm 0.153	0.041 \pm 0.144	0.033 \pm 0.148	0.031 \pm 0.136	0.076 \pm 0.238	0.041 \pm 0.141
Insecticida	60515	dimethoate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.005 \pm 0.022	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Insecticida	1031078	endosulfan sulfato	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.023 \pm 0.072	0.009 \pm 0.038	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.014 \pm 0.060
Insecticida	13194484	ethoprophos	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.078 \pm 0.276	0.010 \pm 0.042	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.214 \pm 0.893	n.d.
Insecticida	120068373	fipronil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.026 \pm 0.116	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Insecticida	58899	HCB-gamma	0.018 \pm 0.078	0.035 \pm 0.078	0.018 \pm 0.078	0.018 \pm 0.078	0.018 \pm 0.078	0.018 \pm 0.080	0.018 \pm 0.078	n.d.	n.d.	0.018 \pm 0.078	0.026 \pm 0.116	n.d.	n.d.
Insecticida	138261413	imidacloprid	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.006 \pm 0.025	n.d.	n.d.	0.015 \pm 0.049	n.d.	0	n.d.	0.019 \pm 0.062	0.011 \pm 0.048
Insecticida	91465086	lambda-cyhalothrin	0.041 \pm 0.129	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.042 \pm 0.131	0.025 \pm 0.110	0.016 \pm 0.072	0.016 \pm 0.072	0.025 \pm 0.110	n.d.	0.016 \pm 0.072	n.d.
Insecticida	121755	malathion	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.010 \pm 0.045	0.011 \pm 0.049	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Insecticida	2385855	mirex	0.009 \pm 0.038	0.009 \pm 0.038	0.009 \pm 0.038	0.025 \pm 0.081	0.009 \pm 0.038	0.009 \pm 0.038	0.009 \pm 0.038	n.d.	n.d.	0.009 \pm 0.038	n.d.	0.016 \pm 0.069	0.017 \pm 0.076
Insecticida	23135220	oxamyl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.052 \pm 0.233	0.087 \pm 0.389	n.d.	n.d.	0.061 \pm 0.271	n.d.	0.063 \pm 0.282	n.d.
Insecticida	29232937	pirimiphos-methyl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.024 \pm 0.105	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Insecticida	41198087	profenofos	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.014 \pm 0.063	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Insecticida	24017478	triazophos	n.d.	0.021 ± 0.094	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.021 ± 0.094	n.d.
Fungicida	131860338	azoxystrobin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.010 ± 0.045	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Fungicida	10605217	carbendazim	0.003 ± 0.011	0.005 ± 0.015	0.003 ± 0.011	0.003 ± 0.011	n.d.	0.046 ± 0.141	0.101 ± 0.249	0.026 ± 0.114	0.081 ± 0.199	0.020 ± 0.076	0.025 ± 0.090	0.115 ± 0.284	0.079 ± 0.262
Fungicida	118741	hexachlorobenzene	n.d.	0.007 ± 0.031	0.007 ± 0.031	n.d.	0.032 ± 0.115	n.d.	0.007 ± 0.031	n.d.	0.023 ± 0.101	n.d.	0.023 ± 0.101	n.d.	n.d.
Fungicida	35554440	imazalil	n.d.	0.006 ± 0.028	n.d.	n.d.	0.006 ± 0.027	n.d.	n.d.	0.006 ± 0.028	n.d.	0.007 ± 0.029	0.006 ± 0.028	n.d.	n.d.
Fungicida	26087478	iprobefos	0.007 ± 0.031	0.007 ± 0.031	0.007 ± 0.031	1.708 ± 7.603	0.008 ± 0.034	0.007 ± 0.031	0.044 ± 0.123	n.d.	n.d.	0.007 ± 0.031	1.697 ± 7.589	n.d.	0.011 ± 0.046
Fungicida	57837191	metalaxyl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.016 ± 0.072	n.d.	n.d.	n.d.
Fungicida	13457186	pyrazophos	0.017 ± 0.074	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.015 ± 0.065	0.014 ± 0.063	n.d.	0.015 ± 0.065	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Fungicida	60207901	propiconazole	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.010 ± 0.042	0.009 ± 0.038	0.009 ± 0.038	n.d.	n.d.	0.013 ± 0.056	n.d.
Fungicida	107534963	tebuconazole	0.006 ± 0.025	0.009 ± 0.040	0.006 ± 0.011	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.006 ± 0.027	n.d.	0.003 ± 0.011	n.d.	0.003 ± 0.011	0.024 ± 0.106
Herbicida	21087649	metribuzin	n.d.	n.d.	0.125 ± 0.547	n.d.	0.173 ± 0.774	n.d.	n.d.	0.014 ± 0.051	n.d.	n.d.	n.d.	0.239 ± 0.736	n.d.
# Plaguicidas			10	11	11	8	12	14	17	14	12	14	9	15	10

n.d.= no detectado

Cuadro 7. Valores T_{Umax} y concentraciones de plaguicidas (µg / L) asociados con las recolecciones de la campaña y el sitio de muestreo.

Sitios	Fechas	Plaguicidas	Concentraciones	<i>Daphnia magna</i>	T _{Umax}
			µg/L	48 horas LC50/EC50 µg/L ^a	
E1	May.2015	diazinon	0.72	2	-0.44
E1	Feb.2016	pyrazophos	0.63	0.36	0.24
E1	Abr.2016	lambda-cyhalothrin	0.33	1.4	-0.63
E1	Mar.2017	tebuconazole	0.11	750	-3.83
E2	May.2015	DDE-p.p'	0.36	1.9	-0.72
E2	Ene.2016	hexachlorobenzene	0.14	500	-3.55
E2	Feb.2016	HCB-gamma	0.35	250	-2.85
E2	Abr.2016	bifenthrin	0.15	0.86	-0.76
E2	Jul.2016	triazophos	0.42	12.92	-1.49
E2	Sep.2016	imazalil	0.126	3540	-4.45
E3	May.2015	diazinon	0.6	2	-0.52
E3	Ago.2015	chlorpyrifos	13.27	27.43	-0.32
E3	Ene.2016	hexachlorobenzene	0.14	500	-3.55
E3	Feb.2016	HCB-gamma	0.35	250	-2.85
E3	Abr.2016	diazinon	0.18	2	-1.05
E3	Jul.2016	carbofuran	0.15	38.6	-2.41
E3	Sep.2016	diazinon	0.25	2	-0.90
E3	Mar.2017	metribuzin	2.45	4180	-3.23
E3	Abr.2017	carbendazim	0.05	28.2	-2.75
E4	Mar.2015	diazinon	1.57	2	-0.11
E4	May.2015	diazinon	0.59	2	-0.53
E4	Ago.2015	iprobefos	34.01	4200	-2.09
E4	Feb.2016	HCB-gamma	0.35	250	-2.85
E4	Abr.2016	bifenthrin	0.15	0.86	-0.76
E5	May.2015	diazinon	0.63	2	-0.50
E5	Ago.2015	chlorpyrifos	15.24	27.43	-0.26
E5	Ene.2016	hexachlorobenzene	0.14	500	-3.55
E5	Feb.2016	HCB-gamma	0.35	250	-2.85
E5	Abr.2016	DDE-p.p'	0.19	1.9	-1.00
E5	Jun.2016	chlorpyrifos	0.25	27.43	-2.04
E5	Ago.2016	ethoprophos	0.36	42.8	-2.08
E5	Sep.2016	diazinon	0.3	2	-0.82
E5	Mar.2017	metribuzin	3.46	4180	-3.08
E6	Feb.2016	pyrazophos	0.59	0.36	0.21
E6	Abr.2016	lambda-cyhalothrin	0.33	1.4	-0.63
E6	Jun.2016	carbofuran	0.18	38.6	-2.33
E6	Jul.2016	cypermethrin	0.35	0.65	-0.27

E6	Ago.2016	chlorpyrifos	0.15	27.43	-2.26
E6	Sep.2016	diazinon	0.29	2	-0.84
E6	Feb.2017	carbendazim	0.42	28.2	-1.83
E6	Mar.2017	carbendazim	0.49	28.2	-1.76
E6	May.2017	chlorpyrifos	0.15	27.43	-2.26
E7	May.2015	diazinon	0.64	2	-0.49
E7	Ene.2016	hexachlorobenzene	0.14	500	-3.55
E7	Feb.2016	pyrazophos	0.58	0.36	0.21
E7	Abr.2016	bifenthrin	0.15	0.86	-0.76
E7	Jun.2016	propiconazole	0.19	3200	-4.23
E7	Jul.2016	cypermethrin	0.45	0.65	-0.16
E7	Ago.2016	chlorpyrifos	0.32	27.43	-1.93
E7	Sep.2016	diazinon	0.29	2	-0.84
E7	Feb.2017	carbendazim	0.67	28.2	-1.62
E7	Mar.2017	carbendazim	0.79	28.2	-1.55
E7	Abr.2017	carbendazim	0.55	28.2	-1.71
E7	May.2017	chlorpyrifos	0.32	27.43	-1.93
E8	May.2015	diazinon	0.64	2	-0.49
E8	Ago.2015	chlorpyrifos	10.52	27.43	-0.42
E8	Mar.2016	chlorpyrifos	1.23	27.43	-1.35
E8	Abr.2016	lambda-cyhalothrin	0.32	1.4	-0.64
E8	Jun.2016	carbofuran	0.1	38.6	-2.59
E8	Jul.2016	carbofuran	0.1	38.6	-2.59
E8	Ago.2016	chlorpyrifos	0.16	27.43	-2.23
E8	Sep.2016	diazinon	0.27	2	-0.87
E8	Oct.2016	malathion	0.2	0.9	-0.65
E8	Abr.2017	carbendazim	0.51	28.2	-1.74
E9	May.2015	diazinon	0.63	2	-0.50
E9	Mar.2016	chlorpyrifos	0.25	27.43	-2.04
E9	Abr.2016	diazinon	0.18	2	-1.05
E9	Sep.2016	chlorpyrifos	0.31	27.43	-1.95
E9	Oct.2016	pyrazophos	0.29	0.36	-0.09
E9	Ene.2017	carbendazim	0.64	28.2	-1.64
E9	Mar.2017	carbendazim	0.45	28.2	-1.80
E9	Abr.2017	carbendazim	0.52	28.2	-1.73
E10	May.2015	diazinon	0.66	2	-0.48
E10	Feb.2016	lambda-cyhalothrin	0.49	1.4	-0.46
E10	Abr.2016	bifenthrin	0.15	0.86	-0.76
E10	Jul.2016	cypermethrin	0.38	0.65	-0.23
E10	Sep.2016	imazalil	0.131	3540	-4.43
E10	Ene.2017	carbendazim	0.34	28.2	-1.92
E11	Mar.2015	chlorpyrifos	0.74	27.43	-1.57
E11	May.2015	diazinon	0.61	2	-0.52

E11	Ago.2015	chlorpyrifos	10.47	27.43	-0.42
E11	Feb.2016	chlorpyrifos	0.14	27.43	-2.29
E11	Abr.2016	DDE-p.p'	0.25	1.9	-0.88
E11	Jul.2016	cypermethrin	0.37	0.65	-0.24
E11	Sep.2016	imazalil	0.123	3540	-4.46
E11	Abr.2017	carbendazim	0.4	28.2	-1.85
E12	Mar.2015	mirex	0.31	1970	-3.80
E12	May.2015	diazinon	0.63	2	-0.50
E12	Abr.2016	lambda-cyhalothrin	0.32	1.4	-0.64
E12	Jun.2016	propiconazole	0.25	3200	-4.11
E12	Jul.2016	cypermethrin	0.36	0.65	-0.26
E12	Ago.2016	chlorpyrifos	0.17	27.43	-2.21
E12	Sep.2016	chlorpyrifos	0.3	27.43	-1.96
E12	Feb.2017	carbendazim	1.11	28.2	-1.40
E12	Mar.2017	carbendazim	0.52	28.2	-1.73
E12	Abr.2017	carbendazim	0.52	28.2	-1.73
E12	Jun.2017	diazinon	0.89	2	-0.35
E13	Mar.2015	mirex	0.33	1970	-3.78
E13	May.2015	diazinon	0.6	2	-0.52
E13	Ago.2015	chlorpyrifos	10.47	27.43	-0.42
E13	Oct.2015	endosulfan sulfate	0.26	920	-3.55
E13	Mar.2016	chlorpyrifos	0.11	27.43	-2.40
E13	Abr.2016	bifenthrin	0.15	0.86	-0.76
E13	Jul.2016	imidacloprid	0.21	6029	-4.46
E13	Ene.2017	carbendazim	0.41	28.2	-1.84
E13	Mar.2017	carbendazim	1.09	28.2	-1.41
E13	Jun.2017	tebuconazole	0.46	750	-3.21

La información sobre la LC50 o EC50 para *Daphnia magna* se obtuvo de la base de datos Ecotox, USA-EPA (<https://cfpub.epa.gov/ecotox/>), excepto el hexaclorobenceno, metalaxilo y pirazofos, que se obtuvieron de la Base de Datos de Propiedades de Plaguicidas. (PPDB) de la Universidad de Hertfordshire (<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>). Ambos consultados 05-02-2018.

Cuadro 8. Abundancia media (\pm DE) de cada taxón de macroinvertebrados (principalmente a nivel de familia) y de todos los macroinvertebrados, y abundancia total y riqueza taxonómica, en cada sitio de estudio en 20 campañas de muestreo.

TAXA	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
PHYLUM PLATYHELMINTHES													
Planariidae	3.8 \pm 3.6	2.3 \pm 3.6	0.7 \pm 1.3	1.8 \pm 2.4	0.6 \pm 1.2	1.0 \pm 1.7	2.7 \pm 5.5	0.1 \pm 0.2	0.3 \pm 0.7	2.9 \pm 7.1	6.1 \pm 5.4	0.2 \pm 0.4	1.8 \pm 4.0
PHYLUM ANNELIDA													
Lumbricidae	0.8 \pm 3.4	2.5 \pm 11.2	0	0.3 \pm 1.1	0	0	0.1 \pm 0.5	0.2 \pm 0.9	0	0.9 \pm 3.8	0.3 \pm 1.1	0.4 \pm 1.8	0.4 \pm 1.8
Oligochaeta	0	0	0	0	0.2 \pm 0.5	0.1 \pm 0.2	0	0	0	0.1 \pm 0.2	0	0	0
Tubificidae	1.5 \pm 2.2	4.1 \pm 9.4	8.8 \pm 22.6	1.5 \pm 3.1	2.8 \pm 4.5	5.4 \pm 6.5	3.3 \pm 4.0	3.1 \pm 6.0	3.0 \pm 5.7	6.0 \pm 8.0	7.4 \pm 8.9	3.3 \pm 4.3	9.3 \pm 19.0
PHYLUM ARTHROPODA													
SubPhylum Chelicerata													
Clase Arachnida													
Entomobryidae	0	0	0	0	0.1 \pm 0.2	0	0.1 \pm 0.5	0	0.2 \pm 0.5	0.5 \pm 1.2	0	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.3
Hydrachnidia	0.2 \pm 0.4	1.0 \pm 2.6	1.1 \pm 2.5	0.3 \pm 0.9	0.6 \pm 1.2	1.3 \pm 3.0	0.3 \pm 0.7	0.1 \pm 0.2	1.3 \pm 2.5	0.5 \pm 1.1	0.3 \pm 0.6	0	0.7 \pm 1.9
SubPhylum Crustacea													
Clase Malacostraca													
Orden Amphipoda													
Hyalellidae	28.8 \pm 21.7	0.1 \pm 0.2	0.5 \pm 2.0	1.1 \pm 2.0	1.3 \pm 5.6	0	0.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.2	0	0.1 \pm 0.3	0	0.1 \pm 0.2	0
Orden Isopoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1 \pm 0.2	0.2 \pm 0.7	0.1 \pm 0.2	0
Orden Decapoda													
Pseudothelphusidae	0.2 \pm 0.7	0	0	0	0	0	0	0	0.1 \pm 0.2	0	0	0	0
SubPhylum Hexapoda													
Clase Insecta													
Orden Ephemeroptera													
Baetidae	34.5 \pm 31.1	123.9 \pm 150.5	86.5 \pm 72.1	46.80 \pm 67.94	52.1 \pm 68.0	49.3 \pm 46.7	30.9 \pm 51.5	20.7 \pm 57.1	68.7 \pm 84.1	28.4 \pm 40.4	1.0 \pm 1.6	3.3 \pm 9.8	24.0 \pm 40.0
Heptageniidae	0.4 \pm 0.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Leptohyphidae	6.7 ± 6.2	0.1 ± 0.2	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2
Leptophlebiidae	16.0 ± 10.8	0.3 ± 1.1	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Odonata													
Calopterygidae	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Coenagrionidae	0	0	0	0.1 ± 0.3	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0
Cordulegastridae	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Plecoptera													
Perlidae	7.8 ± 6.7	0.1 ± 0.2	0	0.9 ± 1.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Blattodea													
Blaberidae	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Hemiptera													
Gerridae	0.7 ± 1.5	0.2 ± 0.7	0	0.5 ± 1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Veliidae	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0
Orden Coleoptera													
Elmidae	0.6 ± 1.0	0	0	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.2	0.3 ± 1.1	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0
Hydrophilidae	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3 ± 1.4
Lampyridae	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Psephenidae	1.5 ± 1.4	0	0	0	0	0	0	0	0.2 ± 0.7	0	0	0	0
Ptilodactylidae	14.7 ± 10.2	0.1 ± 0.2	0	1.2 ± 1.4	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.5	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0
Staphylinidae	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.3	0	0	0	0.1 ± 0.5	0	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.7	0	0
Orden Megaloptera													
Corydalidae	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Trichoptera													
Calamoceratidae	0.3 ± 1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glossosomatidae	6.4 ± 10.2	4.2 ± 9.0	13.0 ± 16.6	1.5 ± 2.2	10.9 ± 14.1	15.7 ± 29.1	3.0 ± 6.4	0.8 ± 1.45	6.4 ± 16.9	3.8 ± 7.0	0.1 ± 0.2	3.2 ± 14.1	8.4 ± 24.2
Helicopsychidae	0.4 ± 0.6	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Hydrobiosidae	5.5 ± 6.4	0.2 ± 0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydropsychidae	16.7 ± 14.4	0.5 ± 2.0	0	2.3 ± 3.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hydroptilidae	0.4 ± 1.4	8.2 ± 17.0	1.1 ± 2.6	3.2 ± 9.2	2.0 ± 6.45	9.2 ± 28.9	0.7 ± 1.5	0.1 ± 0.2	0.4 ± 1.1	3.3 ± 6.8	0.9 ± 2.1	0.1 ± 0.5	1.1 ± 1.5
Lepidostomatidae	0.6 ± 0.9	0	0	0.10 ± 0.3	0.1 ± 0.2	0	0.1 ± 0.2	0	0	1.8 ± 6.9	0	0	0.2 ± 0.7
Leptoceridae	0.3 ± 0.8	0.1 ± 0.5	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2
Odontoceridae	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0
Philopotamidae	1.3 ± 2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polycentropodidae	1.5 ± 2.2	0.2 ± 0.5	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0
Xiphocentronidae	0.3 ± 1.3	0	0	0.3 ± 0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Orden Lepidoptera													
Cosmopterygidae	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0
Orden Diptera													
Blepharoceridae	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceratopogonidae	0.6 ± 1.1	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.3 ± 1.1	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0
Chironomidae	33.3 ± 34.6	39.2 ± 84.0	33.2 ± 50.2	28.0 ± 46.3	25.5 ± 26.9	42.2 ± 42.2	50.0 ± 65.0	17.6 ± 23.2	40.6 ± 74.2	26.1 ± 32.2	35.0 ± 65.5	13.8 ± 21.1	19.3 ± 32.1
Dixidae	0.1 ± 0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Empididae	0.8 ± 1.2	3.0 ± 5.2	2.8 ± 7.1	1.1 ± 2.2	1.4 ± 2.5	1.3 ± 2.9	1.0 ± 1.9	1.7 ± 6.1	2.0 ± 4.5	0.6 ± 1.5	0.1 ± 0.2	0	0.8 ± 2.1
Muscidae	0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0.2 ± 0.5	0	0
Psychodidae	0.2 ± 0.7	1.0 ± 1.6	4.2 ± 4.8	0.4 ± 0.8	3.3 ± 6.0	3.0 ± 3.9	0.9 ± 1.4	0.4 ± 0.9	2.9 ± 4.2	0.5 ± 1.1	0	0.2 ± 0.6	1.2 ± 2.8
Simuliidae	13.3 ± 12.8	58.5 ± 85.5	157.7 ± 185.9	23.2 ± 52.4	119.3 ± 170.2	78.7 ± 73.2	91.2 ± 107.6	3.2 ± 6.4	40.5 ± 55.0	87.6 ± 111.6	16.3 ± 32.9	0.3 ± 0.7	32.1 ± 57.1
Stratiomyidae	0	0	0.1 ± 0.5	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.5	0.2 ± 0.7	0.1 ± 0.5	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.5
Tabanidae	0	0.1 ± 0.5	0	0.1 ± 0.5	0.1 ± 0.2	0	0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.9	0	0.1 ± 0.2	0
Tipulidae	1.9 ± 1.4	0.3 ± 0.8	0	0.4 ± 1.1	0.1 ± 0.3	0	0.3 ± 0.6	0.1 ± 0.2	0	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0	0.1 ± 0.3
PHYLUM MOLLUSCA													
Clase Bivalvia													
Corbiculidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0

Sphaeriidae	0	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0.1 ± 0.2	0	0	0.3 ± 0.6	0	0
Clase Gastropoda													
Orden Basommatophora													
Lymnaeidae	0	0	0	0	0.1 ± 0.5	0.1 ± 0.2	0	0	0	0	0	0	0
Physidae	0	0	5.7 ± 15.0	0.1 ± 0.5	4.1 ± 8.6	5.3 ± 11.5	2.5 ± 4.6	0.5 ± 2.2	4.0 ± 12.4	5.4 ± 8.8	63.4 ± 51.0	0.4 ± 1.2	8.4 ± 17.1
Planorbiidae	0	0.5 ± 1.8	0.4 ± 0.8	0.1 ± 0.2	1.0 ± 2.4	1.4 ± 3.0	0.5 ± 0.8	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.5 ± 1.4	4.7 ± 4.8	0.4 ± 0.8	0.5 ± 1.8
Orden Mesogastropoda													
Hydrobiidae	0.1 ± 0.3	0	0.6 ± 2.5	0	0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0	0	0.2 ± 0.5	0.1 ± 0.5	0	0
Media (±SE) de abundancia	70.7 ± 158.9	87.8 ± 371.5	110.9 ± 478.0	40.5 ± 153.6	79.1 ± 347.0	75.3 ± 267.3	66.0 ± 282.7	17.0 ± 71.7	59.8 ± 232.5	59.4 ± 250.2	47.9 ± 194.5	9.0 ± 38.7	36.3 ± 113.6
Abundancia total	4032	5003	6323	2308	4506	4289	3759	971	3409	3387	2728	511	2068
Riqueza de taxones	40	29	17	34	22	20	24	19	19	23	21	17	20

Cuadro 9. Puntaje promedio (\pm SD) de los índices bióticos en cada sitio de estudio en 20 campañas de muestreo.

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
SPEAR_{pesticides}	46.2 \pm 4.8	38.3 \pm 14.0	35.1 \pm 9.5	41.6 \pm 13.0	33.5 \pm 11.2	32.5 \pm 11.6	21.2 \pm 12.6	18.5 \pm 18.2	28.4 \pm 18.8	27.2 \pm 15.0	6.2 \pm 6.3	7.3 \pm 16.9	31.0 \pm 14.8
BMWP/PAN	77.5 \pm 14.6	27.2 \pm 13.0	28.4 \pm 5.7	35.9 \pm 11.7	28.6 \pm 8.7	30.4 \pm 8.1	26.5 \pm 10.3	11.8 \pm 8.8	23.4 \pm 10.2	25.6 \pm 10.4	23.1 \pm 5.3	7.7 \pm 7.3	24.6 \pm 10.2

Cuadro 10. Los resultados de los modelos (estimación \pm error estándar, valores t y P) que mejor pronosticaron la abundancia, riqueza, SPEAR y BMWP de macroinvertebrados después de un procedimiento de selección hacia atrás del modelo. El error estándar residual, los grados totales de libertad y el parámetro ρ (que indica la correlación temporal de muestreos posteriores) de los modelos son 124.6, 257 y 0.42 para la abundancia; 9.65, 216, 0.19 para la riqueza; 4.92, 216, 0.14 para SPEAR; y, 45.6, 216, 0.13 para BMWP. Los predictores fueron: temp = temperatura del agua, PO4 = fosfato, Sed_dep = deposición de sedimentos, TU_{max} = unidades tóxicas máximas.

	Estimación	SE	t -value	P -value
Abundancia				
Intercept	169.14	43.96	3.85	< 0.001
temp	-6.45	2.44	-2.65	0.009
Sed_dep	36.73	5.79	6.35	< 0.001
TU _{max}	-6.88	2.54	-2.71	0.007
Riqueza				
Intercept	11.28	1.54	7.34	< 0.001
temp	-0.23	0.09	-2.43	0.016
PO ₄	-4.29	0.99	-4.32	< 0.001
Sed_dep	0.60	0.21	2.89	0.004
TU _{max}	-0.17	0.09	-2.03	0.043
SPEAR				
Intercept	33.20	1.49	22.26	< 0.001

PO4	-19.38	5.95	-3.26	0.001
Sed_dep	8.62	0.93	9.22	< 0.001
BMWP				
Intercept	47.16	6.05	7.79	< 0.001
temp	-1.13	0.37	-3.09	0.002
PO ₄	-19.04	3.64	-5.23	< 0.001
Sed-dep	2.41	0.75	3.22	0.001
TU _{max}	-0.69	0.32	-2.18	0.030

Cuadro 11. Resultados del análisis de redundancia parcial (pRDA) que explora la cantidad de variación en la composición de la comunidad de macroinvertebrados explicada por la toxicidad de plaguicidas (TUmax), el enriquecimiento de nutrientes (PO4) y la alteración del hábitat (temperatura e índice de deposición de sedimentos). Se mostraron los grados de libertad (dfmodel, dfresidual), R^2 ajustados (R^2_{adj}) y los valores p asociados (p) (después de las pruebas de permutación con 999 aleatorizaciones).

Variables	df	R^2_{adj}	<i>p</i>
Toxicidad de Plaguicidas (TP)	1, 11	0.13	0.114
Enriquecimiento de nutrientes (EN)	1, 11	0.51	0.006
Alteración del hábitat (HA)	2, 10	0.37	0.024
PT × NE	2, 10	0.50	0.011
PT × HA	3, 9	0.55	0.047
NE × HA	3, 9	0.46	0.021
PT × NE × HA	4, 8	0.62	0.049
Residual	-	0.58	-